

Тяжелые металлы и растения

А. Ф. Титов, Н. М. Казнина,  
В. В. Таланова

# Тяжелые металлы и растения





КАРЕЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ

**А. Ф. Титов, Н. М. Казнина, В. В. Таланова**

# **ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ И РАСТЕНИЯ**

Петрозаводск 2014

УДК 581.1 + 546.4

ББК 28.57

T45

Ответственный редактор  
член-корреспондент РАН Н. Н. НЕМОВА

Рецензенты:  
доктор биологических наук Л. В. Ветчинникова,  
кандидат биологических наук О. Н. Лебедева

**T45 Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В.** Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. 194 с.: ил. 40, табл. 19. Библиогр. 779 назв.

ISBN 978-5-9274-0641-8

Монография посвящена анализу имеющихся в литературе данных и результатов собственных исследований авторов, касающихся поглощения ионов тяжелых металлов и их транспорта по растению, а также влияния тяжелых металлов на основные физиологические процессы. Рассмотрены механизмы металлоустойчивости растений, при этом особое внимание уделено детоксикации ионов металлов в клетке и участию антиоксидантной системы в повышении устойчивости растений к тяжелым металлам. Обобщены имеющиеся сведения о восприятии и передаче сигнала о воздействии тяжелых металлов в растительных клетках.

Для научных работников, преподавателей, аспирантов и студентов вузов.

УДК 581.1 + 546.4

ББК 28.57

ISBN 978-5-9274-0641-8

© Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В., 2014  
© Карельский научный центр РАН, 2014  
© Институт биологии КарНЦ РАН, 2014

## ВВЕДЕНИЕ

Постоянный рост народонаселения и быстрое развитие производства привели в конце 20-го века ситуацию с состоянием окружающей среды во многих странах и регионах мира на грань экологического кризиса. К числу основных факторов деградации природной среды относится ее загрязнение различными поллютантами, среди которых одно из главных мест занимают тяжелые металлы.

Тяжелые металлы – химические элементы, отличающиеся высокой токсичностью для всех живых организмов и способностью по пищевым цепям поступать в организм человека и животных, что представляет серьезную угрозу для их жизнедеятельности (Sharma, Agrawal, 2005; Villiers et al., 2011). По данным Всемирной организации здравоохранения среди поллютантов, оказывающих негативное влияние на человека, тяжелые металлы занимают второе место, уступая лишь пестицидам и значительно опережая такие хорошо известные загрязнители окружающей среды, как двуокись углерода и серы.

Как показывают исследования, на протяжении последних десятилетий содержание тяжелых металлов в окружающей среде – в воздухе, воде и почве – неуклонно повышается. Это связано с быстрым развитием и активной работой промышленных предприятий, резким увеличением количества автотранспорта, ежегодным внесением в почву высоких доз минеральных удобрений, широким применением пестицидов и гербицидов. При этом тяжелые металлы имеют длительный период полураспада с сохранением своих токсических свойств, а также обладают кумулятивным действием, накапливаясь в живых организмах (Verbruggen et al., 2009; Sarwar et al., 2010; Nazar et al., 2012).

Для России, несмотря на заметный спад производства во многих отраслях промышленности, наблюдаемый в последние два десятилетия, проблема загрязнения тяжелыми металлами окружающей среды, особенно почв, стоит не менее остро. В среднем около 11 % почв территории России имеют высокий уровень загрязнения этими элементами, причем в целом ряде регионов данный показатель значительно выше среднего значения. Учитывая сильное негативное влияние тяжелых металлов на растения, нетрудно предположить, что повышение их концентраций в почве должно неизбежно приводить к тем или иным нарушениям фито- и агроценозов, а в определенных случаях даже к полной деградации растительных сообществ. Способность же растений накапливать тяжелые металлы в органах, в том числе используемых в пищу, ограничивает использование загрязненных территорий для выращивания сельскохозяйственных культур (Pinto et al., 2004; Anjum et al., 2012).

В силу сказанного становится понятной актуальность исследований, посвященных влиянию тяжелых металлов на растения. В настоящее время они активно ведутся во многих странах мира, включая Россию. Проведенный нами анализ публикаций в ведущих научных журналах (зарубежных и российских) по физиологии растений показал, что число статей по этой проблеме остается неизменно высоким и интерес к проблеме устойчивости растений к тяжелым металлам с годами не ослабевает. Спектр изучаемых при этом вопросов достаточно широк: поступление и транспорт тяжелых металлов в растениях, их воздействие на различные стороны жизнедеятельности, отдельные анатомо-морфологические и внутриклеточные структуры, биохимические реакции, способность растений переносить воздействие тяжелых металлов и механизмы адаптации к ним.

Однако, несмотря на многочисленные публикации и значительный прогресс, который достигнут за последние годы в изучении данной проблемы, по-прежнему довольно сложно сделать какие-то широкие обобщения. Во многом это связано с особенностями организации и проведения исследований и, как следствие, с тем, что полученные разными авторами результаты очень часто оказываются трудносопоставимыми между собой. Так, во многих случаях,

когда изучается влияние тяжелых металлов на растения, используются разные виды металлов, различные их концентрации и экспозиции, неодинаковые способы обработки растений и т. д. Различаются также объекты (виды, сорта, генотипы), возраст и фаза развития растений, изучаются разные показатели и используются разные методы их оценки. В конечном счете, все это существенно снижает эффективность проводимых исследований.

В настоящей работе авторы попытались обобщить накопленные к настоящему времени сведения, касающиеся различных аспектов влияния тяжелых металлов на растения, относящиеся к наиболее многочисленной группе «исключателей» (excluders) (Baker, 1981). Наряду с этим, рассмотрены вопросы, связанные с восприятием и передачей сигнала в клетках у растений о повышении уровня тяжелых металлов в окружающей среде, а также данные, касающиеся механизмов их металлоустойчивости, действующих на клеточном, субклеточном и молекулярно-генетическом уровнях организации.

При этом мы учитывали, что влияние тяжелых металлов на растения и их ответная реакция подчинены известной зависимости «доза – эффект», которая зачастую носит двухфазный характер. Это означает, что в невысоких концентрациях тяжелые металлы способны оказывать на растения стимулирующий эффект (в отношении тех или других физиологических процессов и показателей), тогда как более высокие дозы вызывают ингибирующий эффект, усиливающийся по мере возрастания действующей концентрации. В определенных случаях он может заканчиваться даже гибелью растения. В данной монографии мы не рассматриваем эффекты, вызванные низкими (стимулирующими) и высокими (летальными) концентрациями тяжелых металлов (это предмет особого рассмотрения), а сосредоточили свое внимание на анализе ингибирующего воздействия концентраций, при которых включаются и функционируют механизмы, позволяющие растениям выживать в условиях этого вида стрессового воздействия.

Авторы выражают благодарность кандидату биологических наук Г. Ф. Лайдинен, кандидату биологических наук Ю. В. Батовой и кандидату биологических наук Л. В. Топчиевой, принимавшим

активное участие в проведении исследований, результаты которых представлены в данной работе. Авторы также искренне признательны научному редактору монографии члену-корреспонденту РАН, доктору биологических наук, профессору Н. Н. Немовой и рецензентам – доктору биологических наук Л. В. Ветчинниковой и кандидату биологических наук О. Н. Лебедевой, которые внимательно и заинтересованно ознакомились с данной работой и сделали ряд ценных замечаний.

## ГЛАВА 1

# ПОСТУПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В РАСТЕНИЯ И ИХ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПО ТКАНЯМ И ОРГАНАМ

### 1.1. Краткая характеристика химических элементов, относящихся к группе тяжелых металлов

Термин «тяжелые металлы» был впервые употреблен еще в 1817 г. немецким химиком Леопольдом Гмелиным (Leopold Gmelin), который разделил известные в то время химические элементы на три группы: неметаллы, легкие металлы и тяжелые металлы (Nabashi, 2009). К тяжелым металлам было отнесено 25 элементов с плотностью от 5,31 до 22,00 г/см<sup>3</sup> (рис. 1).

Однако до сих пор не существует единого понимания, что же такое «тяжелые металлы». Более того, в техническом отчете IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry – Международный союз теоретической и прикладной химии) за 2002 г. отмечено, что термин «тяжелый металл» имеет неверное толкование из-за противоречивых определений. На сегодняшний день выделены лишь критерии, по которым определяется принадлежность того или иного химического элемента к данной группе. Среди них: плотность, атомный вес и атомное число. Словосочетание «тяжелые металлы» часто рассматривается с природоохранной точки зрения (Duffus, 2002), и тогда при включении элемента в эту группу учитываются не столько его физические и химические свойства, сколько биологическая активность, токсичность для живых организмов, распространенность в природной среде, степень вовлеченности в природные и техногенные циклы. Мы в своей работе



придерживались наиболее распространенного определения, согласно которому к тяжелым металлам относят элементы, обладающие свойствами металлов или металлоидов, имеющие плотность более 5 г/см<sup>3</sup>, атомную массу свыше 40 Да, атомное число 23 и выше (Кузнецов, Дмитриева, 2006).

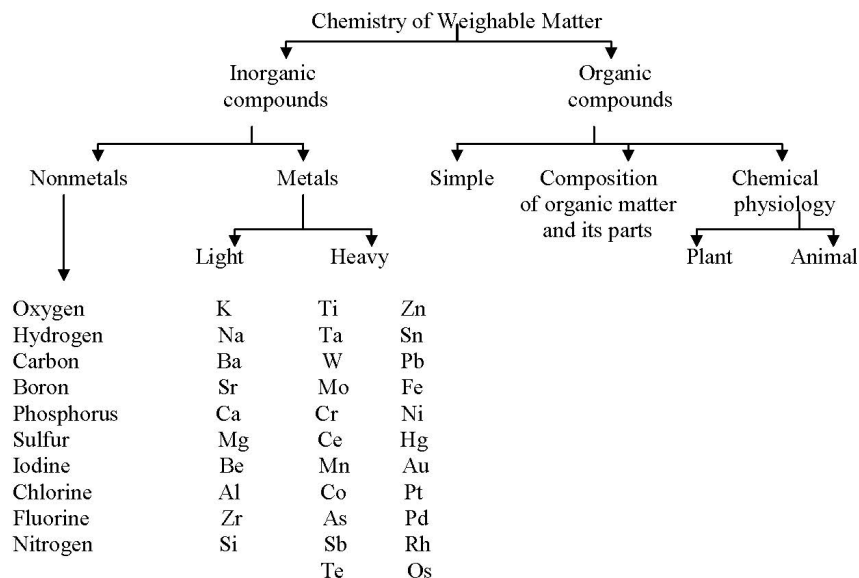


Рис. 1. Схема классификации химических элементов, предложенная Л. Гмелиным в книге «Handbush der theoretischen Chemie» 1817 г. (из: Nabashi, 2009)

Необходимо отметить, что среди тяжелых металлов имеются элементы, необходимые для жизнедеятельности растений (микроэлементы), а также элементы, функциональная роль которых в настоящее время неизвестна (Clemens et al., 2003). Микроэлементы (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni и Zn) участвуют практически во всех процессах, проходящих в растительной клетке: энергетическом обмене, первичном и вторичном метаболизме, гормональной регуляции, передаче сигнала и др. Следует также отметить, что 25–50 % всех белков работают только в присутствии ионов металлов

(Blindauer, Schmid, 2010), из них наибольшее количество (более 1200) функционально связаны с цинком (Krämer et al., 2007; Hänsch, Mendel, 2009; Husted et al., 2011). Кроме того, некоторые металлы-микроэлементы присутствуют в качестве кофакторов в молекулах целого ряда ферментов. Обычно концентрации микроэлементов в растениях невелики (0,001 % от сухой массы клетки и ниже), но при повышении их уровня в окружающей среде они становятся токсичными для живых организмов (Williams, Salt, 2009). В отличие от этого тяжелые металлы, не являющиеся микроэлементами, среди которых важнейшие загрязнители окружающей среды – Cd, Hg и Pb, негативно влияют на растения даже в относительно невысоких концентрациях (Башкин, Касимов, 2004; Hassan, Aarts, 2011).

Установлено, что токсичность тяжелых металлов для живых организмов обусловлена целым рядом их физических и химических особенностей: электронной конфигурацией, электроотрицательностью, ионизацией, величиной окислительно-восстановительного потенциала, сродством к отдельным химическим группам, а также способностью проникать через клеточную оболочку и образовывать прочные соединения на поверхности и внутри клетки (Кожанова, Дмитриева, 1989; Башмаков, Лукаткин, 2009).

Тяжелые металлы относятся преимущественно к рассеянным химическим элементам, поэтому загрязнению ими подвергается земная поверхность, в частности, почвенный покров и гидросфера, а также атмосфера (Добровольский, 1983, 2004). В силу этого повышение их концентрации в окружающей среде вследствие естественного или антропогенного поступления может носить глобальный характер. К естественным источникам тяжелых металлов (рис. 2) относятся горные породы (из продуктов выветривания которых сформировался почвенный покров), вулканы, космическая пыль, эрозия почв, испарение с поверхности морей и океанов, выделение их растительностью (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989; Добровольский, 1992; Богдановский, 1994). Антропогенные источники поступления связаны, в основном, с работой предприятий угледобывающей, металлургической, химической промышленности и энергетического комплекса. Важными источниками загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами являются различные транспортные

средства, а также агротехнические мероприятия, в частности, внесение удобрений и пестицидов, содержащих в своем составе эти элементы (Алексеев, 1987; Ильин, 1991; Merrington, Alloway, 1994; Nicholson et al., 1994; Grant et al., 1998; Никифорова, 2003).



Рис. 2. Основные источники поступления тяжелых металлов в окружающую среду (Титов и др., 2007)

В зависимости от источника загрязнения (естественный или техногенный) наблюдаются заметные различия в профильном распределении тяжелых металлов в почве. При естественном высоком уровне этих элементов на фоне небольшого их накопления в гумусовом горизонте прослеживается увеличение содержания металлов вниз по почвенному профилю. При техногенном загрязнении тяжелые металлы, наоборот, концентрируются в поверхностном слое. Различаются также и формы нахождения металлов в почве:

если в почвах естественных аномалий они представлены в основном в виде сульфатов, сульфидов и карбонатов, то при техногенном загрязнении – в виде оксидов и свободных ионов (Ильин, 2012). Помимо этого, на территориях с естественно высоким уровнем тяжелых металлов формируются особые виды флор, например, галмейная флора (произрастающая на почвах с повышенным содержанием цинка) и серпентинитовая флора (с повышенным содержанием ряда металлов, в том числе никеля и хрома), в состав которой входят металлоустойчивые виды растений. Растительность же, произрастающая на техногенно загрязненных территориях, в большинстве случаев состоит из видов местной флоры и характеризуется сильно выраженной внутривидовой дифференциацией по устойчивости к тяжелым металлам (Косицин, Алексеева-Попова, 1983).

Таким образом, независимо от источника загрязнения территории тяжелыми металлами повышение их уровня в почве практически всегда приводит к увеличению концентрации токсичных ионов в растениях. Поскольку тяжелые металлы поступают в организм человека и животных именно с растительной пищей, создавая серьезную угрозу их здоровью, вопросы, связанные с поглощением ионов металлов растениями и их транспортом в надземные органы, представляют не только чисто научный, но и большой практический интерес.

## **1.2. Поглощение тяжелых металлов корнями растений**

Механизмы поглощения тяжелых металлов корнями включают как пассивный (неметаболический) перенос ионов в клетку без использования дополнительной энергии, так и активный (метаболический) процесс поглощения, сопряженный с затратой энергии, которая используется для перемещения ионов против градиента электрохимического потенциала (Costa, Morel, 1993; Lux et al., 2011).

Пассивный транспорт тяжелых металлов в клетку осуществляется посредством катионных неселективных каналов трех видов: 1) кальциевых каналов, активируемых деполяризацией мембраны (DACC – *depolarization-activated calcium channels*), 2) кальциевых каналов, активируемых гиперполяризацией мембраны (HACC – *hyperpolarization-activated calcium channels*) и 3) катионных кана-

лов, не чувствительных к изменению электрического потенциала (VICC – *voltage-insensitive cation channels*) (White, 2005; DalCorso et al., 2008; Verbruggen et al., 2009; Kudo et al., 2011).

Активный транспорт тяжелых металлов в клетку происходит с участием специальных белков-переносчиков. В последние десятилетия достигнут значительный прогресс в идентификации трансмембранных транспортеров металлов, что отражено в целом ряде работ, в том числе обзоров (Hall, Williams, 2003; Eide, 2006; Krämer et al., 2007; Verbruggen et al., 2009; Blindauer, Schmid, 2010; Ueno et al., 2010; Hassan, Aarts, 2011; Waters, Sankaran, 2011; Uraguchi, Fujiwara, 2012; Khan et al., 2014). На основании анализа литературы можно сделать вывод, что в поступлении и транспорте ионов тяжелых металлов в клетках растений принимают участие большое количество белков, относящиеся к различным семействам. Наиболее изученные семейства: ZIP (*zinc-iron-regulated transporter*), в том числе подсемейство IRT1 (*iron regulated transporter*); ABC (*ATP-binding cassette*) подсемейство PDR (*pleiotropic drug resistance*) и подсемейство MRP (*multidrug resistance-associated proteins*); OPT (*oligopeptide transporters*) подсемейство YS (*yellow-stripe*) и подсемейство YSL (*yellow-stripe1-like*); P<sub>1В</sub>-АТФ-азы подсемейство HMA (*heavy metal ATPase*); CDF (*cation diffusion facilitator*); NRAMP (*natural resistance associated macrophage protein*); CTR (*copper transporter family*); CAX (*cation exchanger*). При этом обнаружено, что все они участвуют в транспорте металлов-микроэлементов как при их недостатке в почве, так и при избытке. Специфических транспортеров для тяжелых металлов, не являющихся необходимыми для растений, не выявлено. В этом разделе мы остановимся только на тех белках, которые у растений-исключателей участвуют в транспорте металлов через плазмалемму, в том числе в их загрузке в ксилему и флоэму.

ZIP-белки малоизбирательны и могут транспортировать несколько двухвалентных катионов металлов (Grotz et al., 1998; Cohen et al., 2004; Ishimaru et al., 2006; Waters et al., 2007; Assunção et al., 2010). На сегодняшний день у целого ряда видов растений обнаружено участие этих белков в поглощении корнями и транспорте через плазмалемму таких катионов, как  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , а также  $\text{Cd}^{2+}$  (табл. 1). В частности, показано, что усиление



Таблица 1. Белки ZIP-семейства, участвующие в транспорте катионов тяжелых металлов через плазмалемму (по: Waters, Sankaran, 2011)

Вид растения	Белок	Катионы металлов					Источник
		Cu <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	
<i>Arabidopsis thaliana</i>	IRT1		+	+	+	+	Korshunova et al., 1999; Rogers et al., 2000
	IRT2		+		+		Vert et al., 2001
	IRT3		+		+		Lin et al., 2009
	ZIP1				+		Grotz et al., 1998
	ZIP3				+		Grotz et al., 1998
	ZIP5				+		Hassan, Aarts, 2011
	ZIP2	+			+		Wintz et al., 2003;
	ZIP4	+			+		Assunção et al., 2010
	ZIP8				+		Van de Mortel et al., 2006
	ZIP10				+		Van de Mortel et al., 2006
	ZIP12				+		Van de Mortel et al., 2006
<i>Cucumis sativus</i>	IRT1		+				Waters et al., 2007
<i>Glycine max</i>	ZIP1				+	+	Moreau et al., 2002
<i>Hordeum vulgare</i>	IRT1		+	+	+	+	Pedas et al., 2008
	ZIP3				+		Pedas et al., 2009
	ZIP5				+		
	ZIP8				+		
<i>Medicago truncatula</i>	ZIP1				+		Lopez-Millan et al., 2004
	ZIP3		+				
	ZIP4			+			
	ZIP7			+			
	ZIP5		+		+		
<i>Oryza sativa</i>	ZIP6		+		+		
	IRT1		+			+	Bughio et al., 2002; Lee, An, 2009
	IRT2		+			+	Ishamaru et al., 2006; Nakanishi et al., 2006
	ZIP1				+	+	Ramesh et al., 2003
	ZIP3				+		Ramesh et al., 2003
	ZIP5				+		Lee et al., 2010b
	ZIP7				+		Yang et al., 2009a
	ZIP8		+		+		Lee et al., 2010c

экспрессии генов *AtZIP1*, *AtZIP2* и *AtZIP5* приводит к увеличению содержания цинка в корнях растений *Arabidopsis thaliana* (Hassan, Aarts, 2011), а гена *OsZIP1* – цинка и кадмия в корнях риса (*Oryza sativa*) (Ramesh et al., 2003). Экспрессия генов других представителей этого семейства (*ZIP3/4/9*) в большей степени

возрастает в условиях дефицита цинка в субстрате (van de Mortel et al., 2006). Предполагается, что ZIP-транспортеры различаются также локализацией на внутриклеточных мембранах и в разных тканях корня (van de Mortel et al., 2006).

Основная функция транспортных белков **IRT1** и **IRT2** – перенос ионов  $\text{Fe}^{2+}$  в клетки корня (Ishimaru et al., 2012). При этом у двудольных растений и однодольных видов, не относящихся к семейству Злаков, со стратегией I транспорта  $\text{Fe}^{2+}$  этот белок, как полагают, является основным транспортером ионов железа (II), однако он может участвовать и в транспорте других ионов ( $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$ ) (Rogers et al., 2000; Sasaki et al., 2012). Так, при усилении экспрессии гена *OsIRT1* в клетках корня риса возрастало содержание кадмия в корнях и побегах растений (Lee, An, 2009), а высокий уровень экспрессии генов *OsIRT1* и *OsIRT2* в клетках дрожжей приводил к увеличению поглощения кадмия из среды роста (Nakanishi et al., 2006).

У растений из семейства Злаков реализуется стратегия II, и  $\text{Fe}^{2+}$  транспортируется в комплексе с фитосидерофорами с участием белка – **YS1**. Этот белок обнаружен у целого ряда видов из этого семейства: у кукурузы (Yen et al., 2001), ячменя (Murata et al., 2006), риса (Lee et al., 2009). Функционирует он в симпорте с протоном (Schaaf et al., 2004). Установлено, что у ячменя (*Hordeum vulgare*) HvYS1 является специфическим транспортером, который переносит только комплексы  $\text{Fe}^{2+}$  с фитосидерофорами (Harada et al., 2007), тогда как у кукурузы (*Zea mays*) (ZmYS1) и у риса (OsYs1) белки способны транспортировать также комплексы  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  (Ma, Nomoto, 1993). У мутантных растений кукурузы с отсутствием гена *YS1* транспорт комплексов  $\text{Zn}^{2+}$  с фитосидерофорами в клетки корня был нарушен (von Wiren et al., 1996).

**NRAMP** – семейство транспортеров, участвующих в переносе двухвалентных ионов металлов в цитоплазму (Krämer et al., 2007). Наиболее изученными белками из этого семейства являются NRAMP3 и NRAMP4, локализованные на тонопласте и осуществляющие транспорт ионов из вакуоли в цитозоль. Относительно недавно было высказано предположение, что возможным участником транспорта тяжелых металлов (в частности,  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ ) через плазмалемму является белок **NRAMP5** (Ishimaru et al., 2012). Он

выявлен на наружной стороне плазматической мембраны клеток эндодермы и экзодермы корня риса. В опытах с рисом, выращенным в условиях повышенной УФ-радиации, были выделены мутантные растения с очень низкой способностью к накоплению кадмия, что оказалось связанным с функционированием гена *OsNRAMP5* (Ishikawa et al., 2012). Кроме того, при сравнении степени участия белков OsIRT1 и OsIRT2 с белком OsNRAMP5 в транспорте ионов кадмия было обнаружено, что именно последний является основным транспортером этого металла у растений риса (Sasaki et al., 2012). Позднее было выявлено, что OsNRAMP5 транспортирует также ионы марганца и цинка (Uraguchi, Fujiwara, 2013).

Специфическими транспортерами, которые осуществляют транспорт только ионов меди (II) через плазмалемму, являются белки подсемейства **COPT** (*copper transporter*) семейства CTR. У *A. thaliana* и риса выявлены семь белков этого типа (COPT1–COPT7), экспрессия генов которых была обнаружена практически во всех тканях корня и побега (Yuan et al., 2011; Puig, 2014). При этом экспрессия четырех из них – COPT1, COPT2, COPT4 и COPT6 – усиливалась в присутствии избытка ионов меди (Jung et al., 2012). Обнаружено также, что в присутствии кадмия у *A. thaliana* возрастал уровень экспрессии генов *AtCOPT1*, *AtCOPT2* и *AtCOPT6*, что приводило к увеличению содержания меди в корнях растений (Gayomba et al., 2013). При этом *cop1cop2cop6* мутантные растения оказались гораздо менее устойчивыми к кадмию по сравнению с диким типом.

Помимо активности белков-переносчиков и катионных каналов на поглощение тяжелых металлов корнями растений большое влияние оказывают свойства почвы, в частности тип почвы, ее химический и механический состав, pH, содержание органического вещества, обменная катионная способность, микрофлора и др. (Ильин, 1991; Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999; Rauser, 1999). Существенное влияние оказывают и другие ионы, находящиеся в почве (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989). При этом наибольший антагонизм проявляют элементы одинаковой валентности, способные образовывать сходные комплексы (Wierzbicka, 1987; Hart et al., 1998). Например, свинец подавляет поглощение и передвижение в побеги железа, марганца и цинка (Kannan, Kerpler, 1976). Всасывание кадмия корнями растений снижается при добавлении в раствор

$\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  (Costa, Morel, 1993; Jalil et al., 1994; Gussarsson et al., 1995). В свою очередь, выявлен ингибирующий эффект кадмия на поглощение и аккумуляцию  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  (Metwally et al., 2005; Liu et al., 2006; Zhang et al., 2010).

### 1.3. Транспорт тяжелых металлов по растению

Общее содержание тяжелых металлов в органах растений зависит, в основном, от двух процессов: активности поглощения металла клетками корня и эффективности его перемещения по растению, где важную роль играет радиальный транспорт ионов (Clemens, 2006b).

Радиальный транспорт ионов тяжелых металлов по тканям корня до сосудов ксилемы может осуществляться как по апопласту, так и по симпласту. Известно, что апопластный путь движения катионов металлов возможен в тех областях корня, где отсутствуют пояски Каспари, например, в зоне меристематических клеток, в начале зоны растяжения и в начале зоны появления корневых волосков (Lux et al., 2004). Он осуществляется посредством диффузии через клеточные стенки и внутриклеточное свободное пространство (Мейчик и др., 2003). Вклад апопласта в поступление токсичных ионов в проводящие сосуды, как полагают, невелик, при этом он возрастет с увеличением концентрации металла в субстрате (Redjala et al., 2009). Однако экспериментальных данных по этому вопросу крайне мало.

В симпластном транспорте ионов тяжелых металлов через плазмалемму клеток в сосуды ксилемы участвуют белки-переносчики **HMA2** и **HMA4** (рис. 3) (Hussain et al., 2004; Verret et al., 2004). Эти белки обнаружены в клетках проводящих тканей практически во всех органах растений, относящихся и к исключателям, и к гипераккумуляторам (Eren, Argüello, 2004; Hussain et al., 2004). Многочисленными экспериментами показано, что мутации по генам *AtHMA2* и *AtHMA4* делают растения *A. thaliana* неспособными транспортировать цинк из корней в побеги (Hussain et al., 2004). У двойных мутантов *hma2hma4* с пониженной функцией этих генов практически все поступившие в растения ионы металла накапливаются в корнях, тогда как в надземных органах цинк полностью отсутствует (Puig, Renardrubia, 2009). Показано также, что подавление экспрессии генов *HMA2* и *HMA4* у *A. thaliana* почти полностью

блокирует перемещение кадмия из корней в побеги (Wong, Cobbett, 2008). Кроме того, в уровне экспрессии генов этих белков выявлены значительные органоспецифические различия. Например, у риса при действии металла наиболее высокий уровень экспрессии гена *OsHMA2* был обнаружен в корнях (Satoh-Nagasawa et al., 2012), у ячменя (*HvHMA2*) – в листьях (Mills et al., 2012), а у пшеницы (*Triticum aestivum*) (*TaHMA2*) – в узлах стебля (Tan et al., 2013). В наших опытах (рис. 4) в присутствии металла уровень транскриптов гена *HvHMA2* повышался в листе 7-дневных проростков ячменя, тогда как в корне он несколько снижался (Казнина и др., 2014).

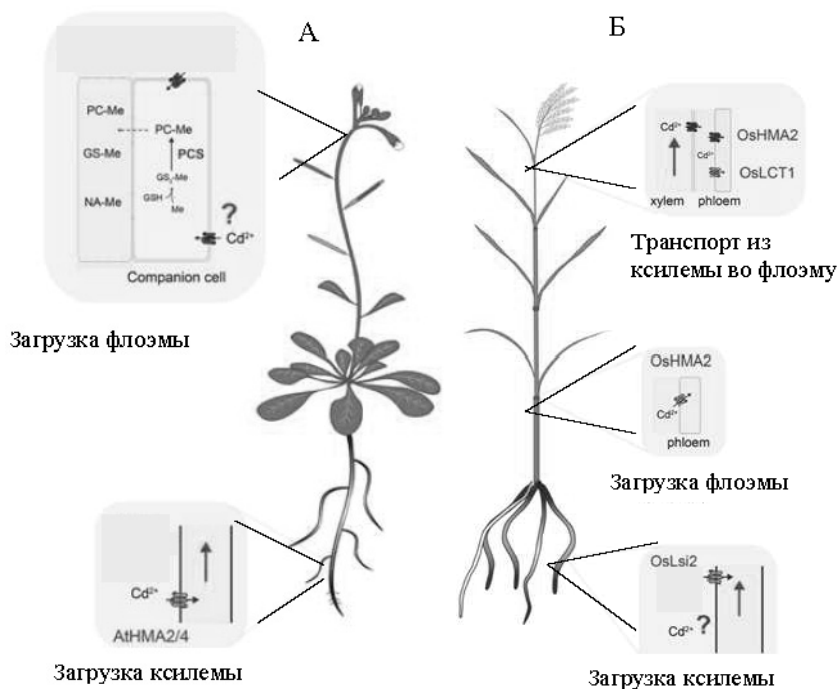


Рис. 3. Возможные механизмы транспорта ионов кадмия в ксилему и флоэму у *Arabidopsis thaliana* (А) и риса (Б):

Me – ионы металла; GSH – восстановленный глутатион; PCS – фито-хелатинсинтаза; PC-Me – комплексы ионов металла с фитохелатинами; GS-Me – комплексы ионов металла с глутатионом; NA-Me – комплексы ионов металла с никотинамином (по: Khan et al., 2014)



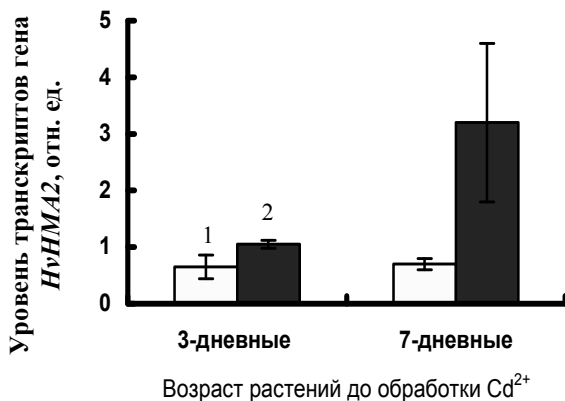


Рис. 4. Уровень транскриптов гена *HvHMA2* в корнях (1) и листьях (2) растений ячменя разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с  $\text{Cd}^{2+}$  (100 мкМ) (по: Казнина и др., 2014б)

В литературе имеются также данные об участии HMA2-белков в загрузке флоэмы у злаков (Yamaji et al., 2013; Khan et al., 2014). В частности, у риса белок OsHMA2 был обнаружен в паренхимных и ситовидных клетках флоэмы (Yamaji et al., 2013). Авторы полагают, что этот белок участвует на заключительном этапе транспорта цинка и кадмия из ксилемы во флоэму.

Предполагается, что тяжелые металлы могут транспортироваться в сосуды ксилемы и в комплексе с хелаторами, например, с глутатионом или фитохелатинами, однако механизм этого транспорта не изучен (рис. 5) (Clemens, 2006b; Verbruggen et al., 2009).

Следует также отметить, что помимо HMA2/4 белков, которые транспортируют несколько тяжелых металлов (в частности, цинк и кадмий), у растений имеются и специфические транспортеры, участвующие в транспорте по растению только одного металла. Например, в корнях *A. thaliana* обнаружен транспортер AtHMA5 (Andrés-Colás et al., 2006), а в корнях риса – OsHMA5 (Deng et al., 2013), функция которого состоит в транспорте ионов меди в сосуды ксилемы. В перицикле корня *A. thaliana* выявлен белок **FRD3** (*ferric reductase defective3*), относящийся к семейству MATE (*multidrug and toxin efflux*) и участвующий в транспорте комплекса  $\text{Fe}^{2+}$  с цитратом в сосуды ксилемы (Green, Rogers, 2004; Durrett et al., 2007).

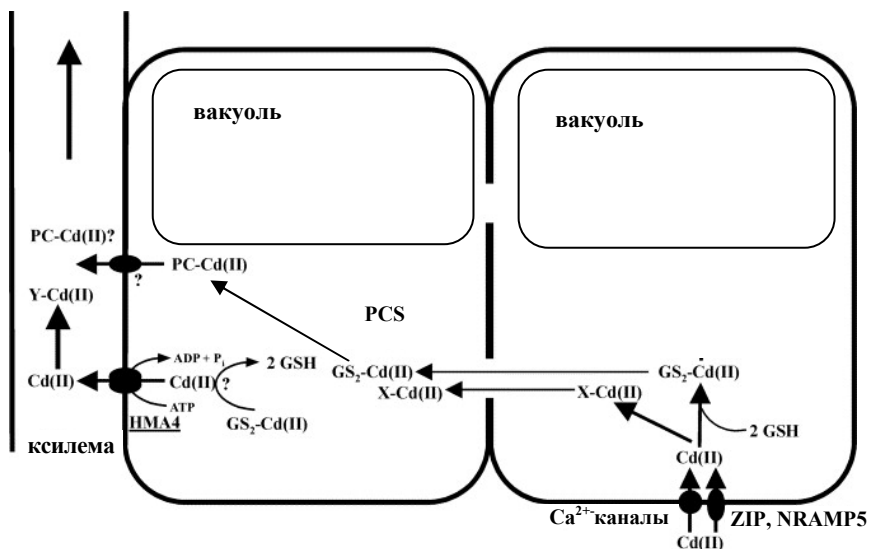


Рис. 5. Схема транспорта ионов кадмия по симпласту:

GSH – восстановленный глутатион; PCS – фитохелатинсинтаза; PC-Cd(II) – комплексы ионов кадмия с фитохелатинами; GS<sub>2</sub>-Cd(II) – комплексы ионов кадмия с глутатионом; X-Cd(II) и Y-Cd(II) – возможные молекулы, участвующие в транспорте кадмия, неизвестные на сегодняшний день (по: Clemens, 2006a)

Транспорт ионов по ксилеме осуществляется в составе ксилемного сока, в основном, в комплексе с органическими кислотами (цитратом и малатом) или аминокислотами (аспарагином, глутамином, гистидином) (Clemens et al., 2002). Скорость движения, например, кадмия из корня в побег сравнительно высока на начальных этапах. С помощью радиоактивного Cd<sup>107</sup> обнаружено, что он появляется в основании стебля риса уже через 1 час после помещения растений на питательный раствор, содержащий кадмий. Но во влагилица листьев и листовые пластинки металл поступает более чем через 36 часов от начала экспозиции, что, по-видимому, связано с его задержкой в узлах стебля (Fujimaki et al., 2010). На транспорт тяжелых металлов из корня в стебель оказывают влияние такие процессы, как перенос ионов через плазмалемму клеток корня, симпластический транспорт до сосудов ксилемы, загрузка в ксилему и связывание ионов металлов в ксилемном соке различными лигандами (Harris, Taylor, 2004).

Известно, что у злаков перемещение ионов из ксилемы во флоэму происходит в узлах стебля (Fujimaki et al., 2010). Наиболее вероятным кандидатом для осуществления такого транспорта кадмия (о других металлах информации в известной нам литературе нет) является белок **LCT1** (*low-affinity cation transporter*). Повышенная экспрессия гена *OsLCT1* была обнаружена в присутствии металла в узлах стебля риса во время созревания семян, особенно в самом верхнем, который связан с соцветием (Uraguchi et al., 2011). Снижение уровня экспрессии этого гена приводило к 50%-му уменьшению концентрации кадмия в зерне без заметных изменений в содержании металлов-микроэлементов.

В целом ряде исследований показано, что тяжелые металлы могут транспортироваться и по сосудам флоэмы в системе органов «донор – акцептор» (Cakmak et al., 2000; Harris, Taylor, 2001). С использованием радиографических методов у растений разных видов зафиксирован флоэмный транспорт изотопов  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{63}\text{Ni}$ ,  $^{65}\text{Zn}$  из листьев в цветки и плоды (семена), а также от листа к листу или к корню (Cakmak et al., 2000; Harris, Taylor, 2001; Page, Feller, 2005). Транспорт металлов по флоэме играет важную роль в доставке питательных элементов, в том числе и микроэлементов, относящихся к тяжелым металлам, в развивающиеся семена (Bauer, Hell, 2006). Отметим, что в последнее время все большую актуальность приобретает проблема увеличения содержания тяжелых металлов в зерне при выращивании хлебных злаков или зернобобовых культур на загрязненных ими почвах. Например, кадмий в количествах, заметно превышающих ПДК, установленного для хлебных злаков (0,2 мг/кг сухого веса), был обнаружен в зерне пшеницы (Harris, Taylor, 2001), риса (Shah, Dubey, 1998) и ячменя (Chen et al., 2007) при выращивании этих видов на почвах, содержащих металл. При этом, как было выявлено у риса, более 90 % кадмия поступает в зерно именно по флоэме (Tanaka et al., 2007). Хотя в целом, несмотря на важность этого вопроса, поступление ионов металлов во флоэму изучено в гораздо меньшей степени, чем в ксилему.

К настоящему времени доказано, что по флоэме тяжелые металлы могут транспортироваться в комплексе с никотинамином, GSH и фитохелатинами, которые были обнаружены во флоэмном соке (рис. 3) (Van Belleghem et al., 2007; Mendoza-Cózatl et al., 2008).

При этом никотинамин связан, как полагают, в основном с микроэлементами ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ), и в транспорте этих комплексов предполагается участие YSL-белков (Curie et al., 2009; Klatte et al., 2009; Verbruggen et al., 2009). Эти белки обнаружены на внутренних мембранах клеток, прилегающих к сосудам флоэмы, как в побегах, так и в корнях (DiDonato et al., 2004; Le Jean et al., 2005; Schaaf et al., 2005; Curie et al., 2009). Вероятно, они помогают поступлению комплексов металлов с никотинамином из сосудов флоэмы в развивающиеся ткани. Оказалось, что YSL-белки функционируют в системе симпорта ионов металлов с протонами и играют важную роль в ремобилизации цинка и меди из стареющих листьев, а также в поступлении в семена железа, цинка и меди (Waters, Grusak, 2008; Ishimaru et al., 2010). В частности, снижение у мутантных растений *A. thaliana* уровня экспрессии гена *AtYSL1* приводило к уменьшению количества и никотинамина, и ионов железа (II) в семенах (Le Jean et al., 2005), а двойные мутанты *ysl1ysl3* имели еще и низкое содержание цинка и меди (Waters et al., 2006). В рисе обнаружен высокий уровень экспрессии гена *OsYSL2* в клетках-спутниках флоэмы в корнях и листьях при дефиците железа в субстрате (Koike et al., 2004).

Во флоэме были обнаружены комплексы фитохелатинов с  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  (Dorcak, Krezel, 2003; Gong et al., 2003; Haydon, Cobbett, 2007; Trampczynska et al., 2010), что оказалось весьма неожиданным, поскольку фитохелатины, о которых пойдет речь в главе 3, считаются молекулами, участвующими в связывании токсичных ионов в цитоплазме и транспорте их в вакуоль. На сегодняшний день белки, осуществляющие транспорт комплексов тяжелых металлов с фитохелатинами во флоэму, неизвестны.

Таким образом, несмотря на значительный прогресс, достигнутый к настоящему времени в понимании механизмов транспорта тяжелых металлов по растению, все еще остается достаточно много вопросов, для выяснения которых необходимо проведение дальнейших исследований. Особого внимания требует идентификация белков и низкомолекулярных соединений, вовлеченных в транспорт тяжелых металлов на всем протяжении от корня до семян. Очень важно идентифицировать *in vivo* субстраты для синтеза бел-

ков-транспортеров и детализировать их биохимические свойства. Лучшее понимание механизмов транспорта тяжелых металлов, а также выяснение роли различных белков-переносчиков в передвижении необходимых растению элементов и тех, которые не имеют функционального значения, будет способствовать созданию сельскохозяйственных культур с высоким качеством продукции и сниженным содержанием тяжелых металлов в органах, используемых в пищу.



## ГЛАВА 2

### **ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ОСНОВНЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ РАСТЕНИЙ**

К настоящему времени влияние тяжелых металлов на основные физиологические процессы у растений в целом относительно неплохо изучено (Clemens, 2001; Серегин, Иванов, 2001; Vassilev, 2002; Иванов и др., 2003; Meharg, 2005; Серегин, Кожевникова, 2006; Broadley et al., 2007; Титов и др., 2007; Башмаков, Лукаткин, 2009; Hasan et al., 2009; Yang, Chu, 2011; Sanita di Toppi, Meharg, 2011; Гришко, Сыщиков, 2012; Казнина, Титов, 2013 и др.). Установлено, что в присутствии тяжелых металлов не только тормозятся рост и развитие растений, но и происходят многочисленные структурно-функциональные изменения в фотосинтетическом аппарате, нарушаются процессы дыхания, транспирации, транспорта веществ и т. д. В результате этого снижается продуктивность отдельных растений и целых фитоценозов, а иногда даже полностью разрушаются растительные сообщества (Ali et al., 2000; Khudsar et al., 2004; Яблоков, 2007; Алексеев, 2008).

В этой главе авторы попытались в максимально сжатой форме обобщить имеющийся фактологический материал, касающийся влияния тяжелых металлов на такие физиологические процессы у растений, как рост, развитие, фотосинтез, дыхание и водный обмен.

#### **2.1. Рост**

Торможение роста является одним из самых важных и наиболее легко регистрируемых (даже визуально) проявлений токсичности тяжелых металлов в отношении растений (Vassilev et al., 1998a;

Rauser, 1999; Иванов и др., 2003; Титов и др., 2007). В многочисленных лабораторных, вегетационных и полевых опытах с разными видами (сортами, генотипами) показано, что под влиянием тяжелых металлов у растений уменьшаются линейные размеры корней и побегов, снижается накопление биомассы. Наибольшее число исследований в этом направлении посвящено действию на растения кадмия, как одного из наиболее токсичных тяжелых металлов, в несколько меньшей степени изучены металлы-микроэлементы (медь, никель, цинк), а также свинец. Влияние других тяжелых металлов на рост растений почти не изучается. Анализ имеющихся литературных данных и результаты собственных исследований позволяют сформулировать ряд выводов общего характера.

1. Степень и характер ингибирующего действия тяжелых металлов на рост, как и на другие физиологические процессы, зависят от их токсичности, концентрации в окружающей среде и продолжительности воздействия, а также от биологических особенностей вида (сорта, генотипа) и возрастного состояния растений (Серегин, Иванов, 2001; Иванов и др., 2003; Metwally et al., 2005; Demirevska-Kerova et al., 2006; Лайдинен и др., 2011; Казнина и др., 2012 и др.). В таблицах 2 и 3 приведены характерные примеры влияния кадмия на рост корней и побегов у ряда видов растений, относящихся к разным семействам.

2. Торможение роста растений под влиянием тяжелых металлов связано с их непосредственным воздействием как на процесс деления, так и на растяжение клеток (Rauser, 1999). Среди основных негативных воздействий на процесс деления – снижение интенсивности клеточных делений, уменьшение количества клеток на всех фазах митоза, увеличение продолжительности отдельных фаз и всего митотического цикла (Breskle, 1991; Серегин, Иванов, 2001). Кроме того, в меристематических клетках корней высокие концентрации тяжелых металлов приводят к цитогенетическим нарушениям, таким как, например, спирализация хромосом, неравное их расхождение к полюсам клетки или полное отсутствие расхождения, появление тетраплоидных клеток (Довгалюк и др., 2001; Демченко и др., 2005; Aina et al., 2007; Ёnyaуar et al., 2010). В присутствии тяжелых металлов обнаружены разрывы нитей ДНК, хромосомные аберрации, нарушения регуляции экспрессии генов (Mouron et al., 2004).

Таблица 2. Влияние кадмия на рост и накопление биомассы корня у растений

Вид растения	Концентрация металла, мкМ	Экспозиция, сут	Величина показателя, % от контроля	Источник
Длина корня				
<i>Arachis hypogaea</i>	200	28	80	Shi, Cai, 2009
	400	28	53	Shi, Cai, 2009
	800	28	34	Shi, Cai, 2009
<i>Avena sativa</i>	300	7	58	Титов и др., 2002
<i>Brassica rapa</i>	800	28	47	Shi, Cai, 2009
<i>Echinochloa crusgalli</i>	50	14	45	Ezaki et al., 2008
	150	14	35	Ezaki et al., 2008
<i>Helianthus annuus</i>	400	28	79	Shi, Cai, 2009
	800	28	53	Shi, Cai, 2009
<i>Hordeum vulgare</i>	20	20	20	Chen et al., 2008
	50	5	67	Demirevska-Кепова et al., 2006
	300	7	58	Титов и др., 2002
	500	5	60	Demirevska-Кепова et al., 2006
	1000	30	30	Tamas et al., 2006
<i>Medicago sativa</i>	30	7	80	Ortega-Villasante et al., 2005
<i>Oryza sativa</i>	100	4	55	He et al., 2007
	500	14	66	Cheng et al., 2008
<i>Phaseolus max</i>	10	6	38	Гришко, Сыщиков, 2012
	100	6	30	Гришко, Сыщиков, 2012
	50	10	81	Xue et al., 2013
	100	10	68	Xue et al., 2013
<i>Pisum sativum</i>	5	21	14	Wodala et al., 2012
	10	6	61	Гришко, Сыщиков, 2012
	100	6	18	Гришко, Сыщиков, 2012
<i>Secale cereale</i>	50	14	55	Wójcik, Tukiendorf, 1999
	250	14	15	Wójcik, Tukiendorf, 1999
<i>Triticum aestivum</i>	50	14	60	Wójcik, Tukiendorf, 1999
	100	30	87	Moussa, El-Gamal, 2010
	250	14	25	Wójcik, Tukiendorf, 1999
	500	7	47	Ouzounidou et al., 1997
	600	7	60	Amirjani, 2012
<i>Vicia faba</i>	8	7	77	Ma et al., 2010
	10	7	67	Ma et al., 2010
<i>Zea mays</i>	10	3	58	Nocito et al., 2008

Окончание табл. 2

Вид растения	Концентрация металла, мкМ	Экспозиция, сут	Величина показателя, % от контроля	Источник
<i>Zea mays</i>	50	14	40	Wójcik, Tukiendorf, 1999
	100	6	28	Pavlovkin et al., 2006
	100	14	38	Wójcik, Tukiendorf, 2005
	100	30	76	Puertas-Mejia et al., 2010
	250	14	10	Wójcik, Tukiendorf, 1999
Биомасса корня				
<i>Arabidopsis thaliana</i>	50	7	42	Perfus-Barbeoch et al., 2002
	100	7	23	Perfus-Barbeoch et al., 2002
<i>Arachis hypogaea</i>	400	28	59	Shi, Cai, 2009
	800	28	44	Shi, Cai, 2009
<i>Avena strigosa</i>	50	4	102	Uraguchi et al., 2006
<i>Brassica napus</i>	50	15	56	Nouairi et al., 2006
	100	15	51	Nouairi et al., 2006
<i>Brassica rapa</i>	400	28	49	Shi, Cai, 2009
	800	28	15	Shi, Cai, 2009
<i>Cajanus cajan</i>	450	80	36	Garg, Kaur, 2013
<i>Helianthus annuus</i>	400	28	42	Shi, Cai, 2009
	800	28	37	Shi, Cai, 2009
<i>Hordeum vulgare</i>	50	5	60	Demirevska-Kepova et al., 2006
	500	5	85	Demirevska-Kepova et al., 2006
<i>Lupinus albus</i>	20	20	37	Chen et al., 2008
	20	15	67	Vázquez et al., 2006
	60	15	40	Vázquez et al., 2006
<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	10	5	55	Шевякова и др., 2003
	100	5	48	Шевякова и др., 2003
<i>Oryza sativa</i>	500	14	66	Cheng et al., 2008
<i>Phaseolus max</i>	50	10	68	Xue et al., 2013
	100	10	53	Xue et al., 2013
<i>Pisum sativum</i>	40	21	53	Rivera-Becerril et al., 2005
<i>Triticum aestivum</i>	30	12	50	Stolt et al., 2003
	50	24	46	Ci et al., 2010
<i>Zea mays</i>	30	7	74	Relán-Álvarez et al., 2006
	20	7	88	Wang et al., 2009

Таблица 3. Влияние кадмия на рост и накопление биомассы побега у растений

Вид растения	Концентрация металла, мкМ	Экспозиция, сут	Величина показателя, % от контроля	Источник
Высота побега				
<i>Arachis hypogaea</i>	400	28	47	Shi, Cai, 2009
	800	28	42	Shi, Cai, 2009
<i>Avena sativa</i>	300	7	44	Титов и др., 2002
<i>Brassica napus</i>	10	15	53	Nouairi et al., 2006
	50	15	39	Nouairi et al., 2006
	100	15	31	Nouairi et al., 2006
<i>Helianthus annuus</i>	100	28	39	Shi, Cai, 2009
	200	28	20	Shi, Cai, 2009
<i>Hordeum vulgare</i>	20	20	37	Chen et al., 2008
	50	5	91	Demirevska-Kepova et al., 2006
	500	5	67	Demirevska-Kepova et al., 2006
	300	7	40	Титов и др., 2002
<i>Oryza sativa</i>	500	14	74	Cheng et al., 2008
<i>Phaseolus max</i>	50	10	84	Xue et al., 2013
	100	10	83	Xue et al., 2013
<i>Pisum sativum</i>	5	21	40	Wodala et al., 2012
	10	6	83	Гришко, Сыщиков, 2012
	100	6	32	Гришко, Сыщиков, 2012
<i>Secale cereale</i>	100	11	77	Крупа, Moniak, 1998
<i>Triticum aestivum</i>	50	24	60	Ci et al., 2010
	100	7	60	Titov et al., 1996
	500	7	55	Ouzounidou et al., 1997
	600	7	76	Amirjani, 2012
<i>Zea mays</i>	10	3	48	Nocito et al., 2008
	25	14	65	Krantev et al., 2008
	80	6	66	Клаус и др., 2013
	200	6	47	Клаус и др., 2013
Сухая биомасса побега				
<i>Arabidopsis thaliana</i>	50	7	70	Perfus-Barbeoch et al., 2002
	100	7	40	Perfus-Barbeoch et al., 2002
<i>Arachis hypogaea</i>	400	28	45	Shi, Cai, 2009
	800	28	38	Shi, Cai, 2009

Окончание табл. 3

Вид растения	Концентрация металла, мкМ	Экспозиция, сут	Величина показателя, % от контроля	Источник
<i>Avena sativa</i>	100	7	80	Astolfi et al., 2004
	100	30	36	Батова и др., 2012
<i>Avena strigosa</i>	50	4	98	Uraguchi et al., 2006
<i>Brassica rapa</i>	400	28	47	Shi, Cai, 2009
	800	28	13	Shi, Cai, 2009
<i>Cajanus cajan</i>	450	80	43	Garg, Kaur, 2013
<i>Helianthus annuus</i>	400	28	29	Shi, Cai, 2009
	800	28	23	Shi, Cai, 2009
<i>Hordeum vulgare</i>	10	14	87	Smýkalová, Zámečnicková, 2003
	20	20	33	Chen et al., 2008
	50	5	85	Demirevska-Kepova et al., 2006
	100	30	56	Puertas-Mejia et al., 2010
	100	30	40	Батова и др., 2012
	500	5	66	Demirevska-Kepova et al., 2006
<i>Oryza sativa</i>	100	4	50	He et al., 2007
	500	2	90	Hsu, Kao, 2003
	500	14	79	Cheng et al., 2008
<i>Phaseolus max</i>	50	10	79	Xue et al., 2013
	100	10	71	Xue et al., 2013
<i>Triticum aestivum</i>	50	24	40	Ci et al., 2010
	30	12	58	Stolt et al., 2003
	1000	7	56	Kovačević et al., 1999
<i>Zea mays</i>	20	7	58	Wang et al., 2009
	30	7	57	Rellán-Álvarez et al., 2006
	100	30	67	Puertas-Mejia et al., 2010

В основе отмеченных нарушений клеточного деления, прежде всего, лежит связывание ионов металлов с сульфгидрильными группами белков веретена и ферментов, ответственных за прохождение митоза (Бессонова, 1991; Иванов и др., 2003; Серегин, Кожевникова, 2006). Некоторые тяжелые металлы (кадмий, никель) вызывают также повреждение ядра (Liu et al., 2003/2004), нарушают синтез РНК и ингибируют активность рибонуклеазы (Shan, Dubey, 1998).

Механизм воздействия тяжелых металлов на растяжение клеток связан, в первую очередь, со снижением эластичности клеточных стенок, причинами которого являются образование ионами металлов прочных связей с SH-группами белков, входящих в ее состав, с повреждением структуры микротрубочек и нарушением водного режима клеток (Poschenrieder et al., 1989; Иванов и др., 2003; Серегин, Кожевникова, 2006; Villiers et al., 2011). Помимо этого, ингибирование металлами роста растяжением может быть связано с нарушением проницаемости мембран вследствие увеличения количества активных форм кислорода и возрастания интенсивности перекисного окисления липидов (Tamas et al., 2006; Sharma, Dietz, 2009).

3. При выращивании растений в присутствии тяжелых металлов их токсическое действие в большей степени проявляется в отношении роста корней (за исключением видов-гипераккумуляторов), поскольку именно в них задерживается и инактивируется большая часть поступивших в растение токсичных ионов (Liu et al., 2008). Накопление тяжелых металлов в корнях сопровождается уменьшением размеров и биомассы корневой системы, снижением количества боковых корней, отмиранием корневых волосков (Vassilev et al., 1995; Titov et al., 1996; Серегин, Иванов, 2001; Demirevska-Kerova et al., 2006; Uraguchi et al., 2006; Титов и др., 2007; Башмаков, Лукаткин, 2009; Shi, Cai, 2009 и др.).

Торможение роста побегов наблюдается, как правило, при более высоких концентрациях тяжелых металлов, чем корней. В результате этого уменьшаются высота побегов и размеры листовых пластинок, снижается биомасса надземных органов, а у злаков еще и длина междоузлий. Размеры соцветий, а также масса плодов и семян уменьшаются в присутствии металлов в гораздо меньшей степени, поскольку их содержание в этих органах обычно минимально, а негативное действие на генеративные органы в основном опосредованное (Vassilev et al., 1996; Khurana et al., 2006; Батова и др., 2012).

Отдельно необходимо отметить влияние тяжелых металлов на рост листа – основного, специализированного органа фотосинтеза. Повышение концентрации всех изученных металлов в окружающей среде приводит к значительному уменьшению площади листовой пластинки, что является одной из причин снижения интенсивности фотосинтеза и транспирации (Veselov et al., 2003;

Khudsar et al., 2004; Казнина и др., 2011). Заметное снижение размеров листьев в присутствии высоких концентраций тяжелых металлов обнаружено практически у всех видов растений, с которыми проводились подобные исследования (табл. 4).

Таблица 4. Влияние тяжелых металлов на рост листа

Металл	Вид растения	Концентрация металла, мкМ	Экспозиция, сут	Площадь листа, % от контроля	Источник
Cd <sup>2+</sup>	<i>Arachis hypogaea</i>	100	28	49	Shi, Cai, 2009
	<i>Gossypium hirsutum</i>	100	6	90	Daud et al., 2013
	<i>Helianthus annuus</i>	50	4	28	Hatata, Abdel-Aal, 2008
		100	4	16	Hatata, Abdel-Aal, 2008
	<i>Hordeum vulgare</i>	100	4	69	Казнина и др., 2012
	<i>Lepidium sativum</i>	450	30	85	Gill et al., 2011
		100	30	68	Gill et al., 2011
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	3	6	35	Poshenrieder et al., 1989
	<i>Pisum sativum</i>	50	28	37	Sandalio et al., 2001
	<i>Vigna radiata</i>	100	3	21	Muneer et al., 2011
		500	3	17	Muneer et al., 2011
	<i>Zea mays</i>	10	6	89	Гришко, Сыщиков, 2012
		100	6	48	Гришко, Сыщиков, 2012
		80	6	57	Клаус и др., 2013
		200	6	34	Клаус и др., 2013
Pb <sup>2+</sup>	<i>Plantago major</i>	2000	30	61	Kosobrukhov et al., 2004
		2000	30	30	Kosobrukhov et al., 2004
Zn <sup>2+</sup>	<i>Avena strigosa</i>	100	4	70	Uraguchi et al., 2006
	<i>Festuca rubra</i>	100	20	68	Hertstein, Jäger, 1986
	<i>Pelargonium graveolens</i>	500	15	29	Misra et al., 2005
	<i>Pisum sativum</i>	50	28	39	Sandalio et al., 2001
	<i>Populus tremula</i>	130	61	15	Durand et al., 2010
	<i>Setaria viridis</i>	160	25	76	Казнина и др., 2009
	<i>Typha latifolia</i>	50	21	27	Ye et al., 1997



4. Наиболее устойчивым к действию тяжелых металлов ростовым процессом является прорастание семян (Shah, Dubey, 1998; Лянгузова, 1999; Холодова и др., 2005; Титов и др., 2007 и др.), что, очевидно, связано с неспособностью токсичных ионов проникать через семенную оболочку. Лишь на заключительной стадии набухания семян, когда повреждаются семенные покровы, они могут поступать в клетки зародыша и вызывать задержку прорастания вследствие торможения деления и растяжения клеток (Wierzbicka, Obidzińska, 1998; Серегин, Кожевникова, 2006).

5. Рост растений может также замедляться в результате опосредованного действия тяжелых металлов, связанного с изменением гормонального баланса (Veselov et al., 2003), нарушениями фотосинтеза (Vassilev et al., 1997), водного режима (Barceló, Poschenrieder, 1990), минерального питания (Siedlecka, 1995), дыхания (Pavlovkin et al., 2006).

## 2.2. Развитие

Влияние тяжелых металлов на развитие растений изучено в гораздо меньшей степени, чем их воздействие на рост. Тем не менее на основании имеющихся работ, посвященных этому вопросу, а также результатов собственных исследований можно сделать следующие выводы.

1. Повышенные концентрации тяжелых металлов в окружающей среде задерживают развитие растений и наступление очередных фенологических фаз, что нередко приводит к увеличению продолжительности вегетационного периода, а в ряде случаев растения вообще не переходят к генеративному развитию, несмотря на вполне благоприятные природно-климатические условия (Vassilev et al., 1998b; Khudsar et al., 2004; Казнина и др., 2006).

2. Задержка наступления очередных фенофаз у растений в присутствии тяжелых металлов в большей степени выражена на ранних этапах онтогенеза, тогда как на более поздних этапах развития такого рода различия сглаживаются или полностью исчезают (Vassilev et al., 1998b; Казнина, 2003).

3. Тяжелые металлы (в частности, кадмий и свинец) тормозят рост и дифференциацию апикальной меристемы стебля (конуса

нарастания) у злаков, что приводит к снижению темпов органогенеза (рис. 6). При этом высокие концентрации металлов могут вызывать полную остановку развития растений уже на I этапе органогенеза (Титов и др., 2001; Казнина, 2003). Снижение темпов органогенеза под влиянием тяжелых металлов, очевидно, связано с замедлением скорости деления клеток апикальной меристемы стебля, в результате чего необходимое для перехода конуса нарастания к следующему этапу количество клеток накапливается позднее, чем в обычных условиях роста.

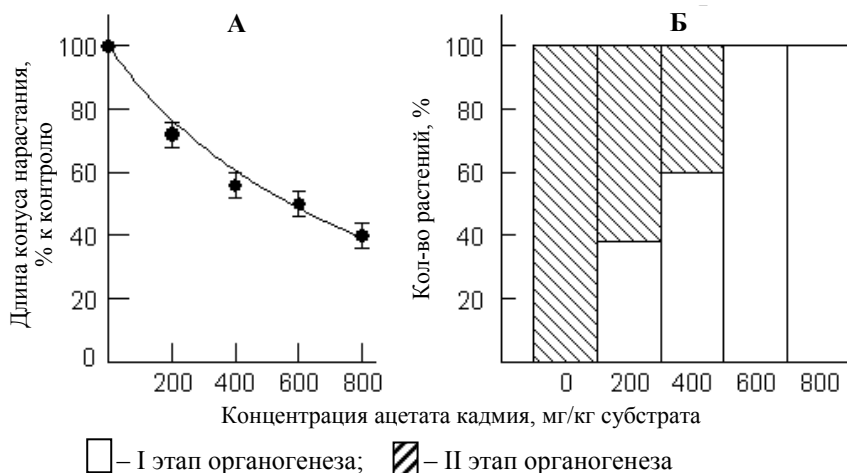


Рис. 6. Влияние ионов кадмия на длину конуса нарастания (А) и темпы органогенеза (Б) у растений ячменя в фазе проростков (Казнина и др., 2006)

4. Замедление развития растений в присутствии тяжелых металлов может быть вызвано изменением (нарушением) клеточного метаболизма в верхушечных меристемах, а также нарушением минерального питания (Казнина и др., 2006).

### 2.3. Фотосинтез

Известно, что фотосинтез отличается очень высокой чувствительностью к воздействию тяжелых металлов, которые влияют на многие стороны этого процесса. При этом, как показано в много-

численных работах, снижение скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  в присутствии тяжелых металлов (табл. 5) может быть связано как с функциональными, так и со структурными изменениями в фотосинтетическом аппарате растений (ФСА) (Vassilev, 2002; Титов и др., 2007). Ниже указаны основные «мишени» токсического действия металлов на фотосинтетические процессы у растений.

Таблица 5. Влияние кадмия на интенсивность фотосинтеза растений

Вид растения	Концентрация металла, мкМ	Экспозиция, сут	Величина показателя, % от контроля	Источник
<i>Avena sativa</i>	100	14	82	Казнина, 2003
<i>Hordeum vulgare</i>	10	3	60	Smýkalová, Zámečnicková, 2003
	100	4	69	Казнина и др., 2010
	250	10	94	Vassilev et al., 2004
	500	10	89	Vassilev et al., 2004
<i>Lactuca sativa</i>	10	28	27	Dias et al., 2013
<i>Phaseolus max</i>	50	10	81	Xue et al., 2013
	100	10	65	Xue et al., 2013
<i>Pisum sativum</i>	100	0.08 (2 ч)	75	Balakhnina et al., 2005
	1000	0.08	62	Balakhnina et al., 2005
<i>Triticum aestivum</i>	50	9	70	Ci et al., 2010
	100	30	91	Moussa, El-Gamal, 2010
	400	30	66	Moussa, El-Gamal, 2010
	500	4	80	Bishnoi et al., 1993
<i>Vigna radiata</i>	100	6	59	Wahid et al., 2007
	100	12	42	Wahid et al., 2007
<i>Zea mays</i>	25	14	70	Krantev et al., 2008

1. В присутствии тяжелых металлов наблюдаются определенные изменения в анатомической структуре листа: уменьшаются размеры клеток мезофилла и толщина клеточной стенки, снижаются число и размеры хлоропластов, а также размеры замыкающих клеток устьиц (Vitória et al., 2003; Kosobrukhov et al., 2004; Титов и др., 2007; Казнина и др., 2011).

2. Тяжелые металлы вызывают различные нарушения в структурной организации хлоропластов: уменьшение числа гран и тилакоидов, снижение протяженности мембран (Molas, 1997; Alkhatib et al., 2011), изменение структуры мембран и их химического

состава (в частности, снижение содержания ненасыщенных жирных кислот), увеличение количества пластоглобул (Vassilev et al., 2004; Souza et al., 2005).

3. Под влиянием тяжелых металлов в листьях растений уменьшается содержание фотосинтетических пигментов (табл. 6) (Vassilev et al., 1998a; Таланова и др., 2001; Nouairi et al., 2006; Казнина и др., 2012 и др.). При этом в большей степени это относится к хлорофиллам, чем к каротиноидам (Khudsar et al., 2001; Таланова и др., 2001; Prasad, 2004). Основными причинами снижения количества хлорофиллов *a* и *b* в присутствии тяжелых металлов являются: подавление биосинтеза хлорофиллов, усиление процесса их деградации, нарушение ультраструктуры хлоропластов (Sheoran et al., 1990; Molas, 1997).

4. Тяжелые металлы оказывают отрицательное влияние на световые реакции фотосинтеза и на структурную целостность фотосистем (Li, Miles, 1975; Siedlecka, Krupa, 1996; Tukendorf, Baszynski, 1991). Наиболее чувствительна к ионам металлов фотосистема II (ФС II) (Кrupa, Baszynski, 1995; Di Cagno et al., 2001). В присутствии тяжелых металлов снижается эффективность ее работы, что регистрируется по изменению целого ряда параметров флуоресценции хлорофилла. Например, снижаются максимальный ( $F_m$ ) и минимальный ( $F_0$ ) выход флуоресценции, переменная флуоресценция ( $F_v$ ), квантовая эффективность ФС II ( $F_v/F_m$ ), замедляется скорость электронного транспорта. Все это указывает на нарушения в работе ФСА растений (Schreiber et al., 1994; Maksymiec, 1997; Maxwell, Johnson, 2000; DalCorso et al., 2008; Казнина и др., 2012). Данных о влиянии тяжелых металлов на фотосистему I (ФС I) очень мало, тем не менее установлено, что некоторые тяжелые металлы (в частности, кадмий) повреждают светособирающие антенные комплексы реакционных центров как ФС II, так и ФС I (Siedlecka, Krupa, 1999; Fagioni et al., 2009). Известно также, что в присутствии тяжелых металлов замедляется скорость циклического и нециклического фотофосфорилирования (Tukendorf et al., 1993).

5. Негативное влияние тяжелых металлов на темновые реакции фотосинтеза связано главным образом с подавлением активности ферментов цикла Кальвина и, в частности, основного фермента ассимиляции  $\text{CO}_2$  – рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы

Таблица 6. Влияние кадмия на содержание хлорофиллов ( $a+b$ ) в листьях растений

Вид растения	Концентрация металла, мкМ	Экспозиция, сут	Величина показателя, % от контроля	Источник
<i>Arachis hypogaea</i>	400	28	59	Shi, Cai, 2009
<i>Avena sativa</i>	100	7	73	Astolfi et al., 2004
	100	14	75	Казнина, 2003
<i>Brassica napus</i>	50	15	34	Nouairi et al., 2006
	100	15	20	Nouairi et al., 2006
<i>Brassica rapa</i>	800	28	46	Shi, Cai, 2009
<i>Helianthus annuus</i>	50	4	51	Hatata, Abdel-Aal, 2008
	400	28	71	Shi, Cai, 2009
	800	28	55	Shi, Cai, 2009
<i>Hordeum vulgare</i>	50	4	68	Таланова и др., 2001
	54	12	80	Vassilev et al., 1998a
	100	4	92	Казнина и др., 2010
	250	10	90	Vassilev et al., 2004
	500	10	82	Vassilev et al., 2004
<i>Lactuca sativa</i>	10	28	72	Dias et al., 2013
	50	28	44	Dias et al., 2013
<i>Lepidium sativum</i>	50	30	74	Gill et al., 2011
	100	30	62	Gill et al., 2011
<i>Lupinus albus</i>	20	15	83	Vazquez et al., 2006
	60	15	64	Vazquez et al., 2006
<i>Oryza sativa</i>	250	2	74	Roychoudhury et al., 2011
	500	2	70	Roychoudhury et al., 2011
	500	3	36	Hsu, Kao, 2003
<i>Phaseolus max</i>	50	10	82	Xue et al., 2013
	100	10	57	Xue et al., 2013
<i>Secale cereale</i>	100	11	63	Krupa, Moniak, 1998
	500	7	50	Krupa et al., 2008
<i>Triticum aestivum</i>	100	30	91	Moussa, El-Gamal, 2010
	400	30	80	Moussa, El-Gamal, 2010
	500	4	66	Bishnoi et al., 1993
	500	7	50	Ouzounidou et al., 1997
<i>Zea mays</i>	25	14	52	Krantev et al., 2008
	100	7	70	Gaidos et al., 2012
	80	6	86	Клаус и др., 2013
	200	6	82	Клаус и др., 2013

(Sheoran et al., 1990; Krantev et al., 2008). Основными причинами уменьшения активности ферментов являются нарушение четвертичной структуры белков в результате взаимодействия ионов металлов с SH-группами и ингибирование синтеза ферментов *de novo* (Malic et al., 1992). Обнаружено также снижение уровня экспрессии генов, кодирующих ряд ферментов (Hajdуч et al., 2001). К косвенным причинам замедления скорости реакций темновой фазы фотосинтеза в присутствии тяжелых металлов относят снижение поступления в клетки  $\text{CO}_2$  вследствие уменьшения числа устьиц (Barylа et al., 2001) или их закрывания (Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999).

6. Помимо непосредственного воздействия тяжелых металлов на те или иные фотосинтетические реакции, возможно и их опосредованное влияние на фотосинтез, связанное с изменениями в процессе дыхания (Greger, Lindberg, 1987), с нарушениями водного обмена и минерального питания (Ouzounidou et al., 1997; Siedlecka, Krupa, 1999).

## 2.4. Дыхание

Дыхание – основной источник энергии для жизнедеятельности растений, в том числе и для процесса их адаптации к неблагоприятным условиям внешней среды. Кроме того, дыхание считается центральным звеном внутриклеточного метаболизма. Однако, несмотря на это, влияние тяжелых металлов на процесс дыхания до сих пор изучено по сравнению с другими физиологическими процессами довольно слабо. На сегодня известно следующее.

1. Дыхание является одним из наиболее устойчивых к тяжелым металлам физиологическим процессом растений (Greger, Ögren, 1991; Romanowska et al., 2002). В довольно широком диапазоне концентраций тяжелые металлы не вызывают каких-либо явно выраженных сбоев в дыхании, и только их высокие концентрации приводят к снижению скорости этого процесса.

2. Влияние тяжелых металлов на дыхание связано, в первую очередь, с изменением активности ферментов. Повышение скорости этого процесса, нередко отмечаемое при действии на растения относительно невысоких концентраций тяжелых металлов, вызыва-

но активацией ряда ферментов гликолиза, пентозофосфатного пути и цикла Кребса, тогда как замедление дыхания – снижением их активности. Так же как и в других случаях, низкая активность ферментов при действии тяжелых металлов на растения объясняется изменениями в их структуре, связанными с взаимодействием ионов металлов с сульфгидрильными группами молекул белков, а также с замедлением синтеза этих белков *de novo* (Van Assche, Clijsters, 1990; Chugh, Sawhney, 1999). Замедление скорости дыхания растений в присутствии высоких концентраций тяжелых металлов может быть обусловлено и разобщением окислительного фосфорилирования (Kessler, Brand, 1995).

3. К ингибированию процесса дыхания в присутствии тяжелых металлов могут также приводить определенные изменения в структуре мембран митохондрий, снижение их проницаемости (Prasad et al., 2001), а также замедление электронного транспорта на внутренней мембране митохондрий (Heyno et al., 2008).

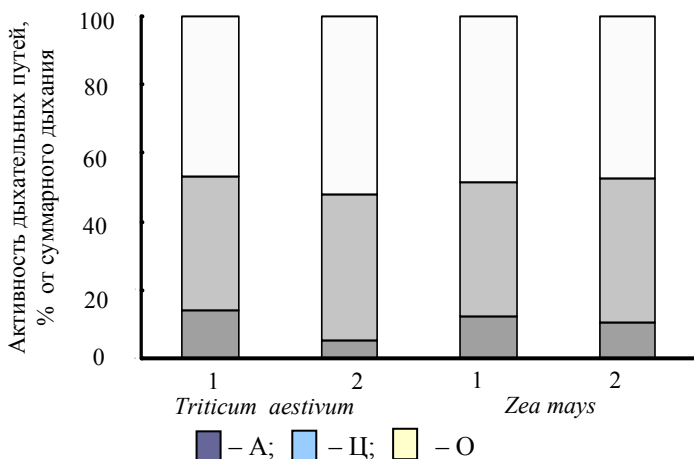


Рис. 7. Соотношение величин активности альтернативного цианидрезистентного (А), цитохромоксидазного (Ц) и остаточного (О) дыхания у растений пшеницы и кукурузы в норме (1) и при воздействии цинка (2) (по: Рахманкулова и др., 2008)

4. Под влиянием тяжелых металлов у растений может изменяться соотношение дыхательных путей. Так, высокие концентрации цинка вызывают у злаков (пшеница, кукуруза) снижение доли гликолиза и увеличение доли пентозофосфатного пути. Кроме того, возрастает доля суммарных дыхательных затрат за счет энергетически более выгодного цитохромоксидазного пути (рис. 7) (Рахманкулова и др., 2008). Иногда у растений в присутствии кадмия отмечают увеличение интенсивности альтернативного цианидрезистентного пути дыхания (Дмитрюкова и др., 2011).

## 2.5. Водный обмен

Важную роль в жизнедеятельности растений и формировании их продуктивности играет водный обмен. Поддержание в клетках и тканях определенного водного баланса является обязательным условием не только нормального роста и развития растений, но и их устойчивости к факторам внешней среды (Barceló, Poschenrieder, 1990). По сравнению с ростом и фотосинтезом, действие тяжелых металлов на водный обмен растений изучено несколько меньше, хотя предполагают, что его нарушение под влиянием металлов является одной из главных причин их фитотоксичности (Vassilev et al., 1998a). На сегодняшний день известно следующее.

1. Тяжелые металлы вызывают снижение относительного содержания воды в клетках и тканях растений, что связано с уменьшением числа и диаметра сосудов ксилемы и ситовидных трубок флоэмы (Poschenrieder, Barceló, 1999), с изменением проницаемости мембран и усилением выхода ионов  $K^+$  из клеток корня и стебля (Poschenrieder et al., 1989; Llamas et al., 2000; Neill et al., 2008). Кроме того, наблюдаемое в этом случае уменьшение размеров корневой системы и числа корневых волосков приводит к снижению всасывающей поверхности корня и, как следствие, к уменьшению содержания воды в растении (Poschenrieder, Barceló, 1999; Veselov et al., 2003). При очень высоких концентрациях тяжелых металлов по указанной причине может происходить настолько сильное ограничение поступления воды, что наблюдается гибель растений (Сливинская, 1992).



2. Под влиянием тяжелых металлов уменьшается водный потенциал растений, в том числе осмотический потенциал, что рассматривается в качестве одного из наиболее важных элементов адаптивной стратегии растений (Kholodova et al., 2011). Одной из возможных причин уменьшения водного потенциала и его составляющей – осмотического потенциала – в этом случае является изменение эластичности клеточных стенок сосудов, обусловленное частичным замещением ионов кальция (Barceló, Poschenrieder, 1990). Другой возможной причиной падения осмотического потенциала выступает значительное уменьшение объема клеток, вызванное потерей ими воды (Kholodova et al., 2011).

3. Тяжелые металлы замедляют скорость транспирации (табл. 7). Главными причинами этого являются: уменьшение числа устьиц и их размеров (Molas, 1997; Greger, Johansson, 2006; Özyiğit, Akinci,

Таблица 7. Влияние тяжелых металлов на интенсивность транспирации растений

Металл	Вид растения	Концентрация металла, мкМ	Экспозиция, сут	Интенсивность транспирации, % от контроля	Источник
Cd <sup>2+</sup>	<i>Hordeum vulgare</i>	10	3	45	Smýkalová, Zámečnicková, 2003
		54	12	87	Vassilev et al., 1998a
		100	4	76	Казнина и др., 2011
		250	10	88	Vassilev et al., 2004
		500	10	77	Vassilev et al., 2004
	<i>Lactuca sativa</i>	10	28	63	Dias et al., 2013
	<i>Oryza sativa</i>	18	1	92	Uraguchi et al., 2009
		500	3	50	Hsu, Kao, 2003
	<i>Triticum aestivum</i>	40	2 ч	43	Veselov et al., 2003
		50	9	62	Ci et al., 2010
		500	4	87	Bishnoi et al., 1993
	<i>Vigna radiata</i>	100	12	71	Wahid et al., 2007
	<i>Zea mays</i>	450	2 ч	75	Bazzaz et al., 1974
Ni <sup>2+</sup>	<i>Oryza sativa</i>	500	5	89	Llamas, Sanz, 2008
Cu <sup>2+</sup>	<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	25	7	32	Kholodova et al., 2011
		50	7	40	Kholodova et al., 2011
Zn <sup>2+</sup>	<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	250	7	50	Kholodova et al., 2011
		500	7	60	Kholodova et al., 2011

2009; Казнина и др., 2011), закрытие устьичной щели, связанное с возрастанием количества АБК в замыкающих клетках или с изменением в регуляции  $K^+$ -каналов в замыкающих клетках (Bishnoi et al., 1993; Perfus-Barbeoch et al., 2002). Помимо непосредственного воздействия тяжелых металлов на устьица, снижение транспирации может быть связано с уменьшением размеров листьев и корневой системы, а также с нарушением минерального питания, в частности, процесса поступления в замыкающие клетки ионов  $K^+$  и  $Ca^{2+}$  (Barceló, Poschenrieder, 1990; Molas, 1997).

4. В присутствии тяжелых металлов оводненность клеток и тканей уменьшается в гораздо меньшей степени, чем остальные показатели водного режима растений (Sheoran et al., 1990; Molas, 1997; Казнина и др., 2012), что связано главным образом с увеличением устьичного сопротивления и/или снижением транспирации.

Таким образом, тяжелые металлы вызывают у растений многочисленные изменения, происходящие на разных уровнях: организменном, тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном. Имея большое количество «мишеней» для своего действия, тяжелые металлы способны отрицательно влиять на многие стороны жизнедеятельности растений. Анализ литературы и результаты собственных исследований показывают, что степень ингибирования тяжелыми металлами физиологических процессов в большой степени определяется концентрацией металла в окружающей среде, а также зависит от его токсичности, продолжительности действия и чувствительности вида (сорта, генотипа). При невысоких концентрациях тяжелых металлов наблюдаемые в растениях изменения не нарушают основные физиологические процессы и их согласованность, а иногда даже вызывают активизацию части из них. Очевидно, существующие у растений механизмы адаптации во многих случаях позволяют им обеспечивать функционирование таких процессов, как фотосинтез, дыхание, водный обмен, на достаточном для поддержания жизнедеятельности уровне и благодаря этому успешно расти и развиваться.

## ГЛАВА 3

### МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Способность растений произрастать в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами обеспечивается наличием у них широкого спектра разнообразных механизмов устойчивости, действующих на разных уровнях организации растительного организма (Yang et al., 2005; Титов и др., 2007). Все эти многочисленные механизмы соответствуют, как принято считать, двум разным стратегиям выживания организмов в условиях стресса: «избегания» (*avoidance*), когда растение тем или иным образом ограничивает поступление токсичных ионов в клетки, или «устойчивости» (*tolerance*) – стратегии, связанной с действием внутриклеточных механизмов их детоксикации (Regvar, Vogel-Mikuš, 2008). Механизмы избегания включают внеклеточное осаждение тяжелых металлов в ризосфере, уменьшение всасывания ионов за счет выделения клетками корня различных хелаторов, сорбцию тяжелых металлов клеточной стенкой (Delisle et al., 2001; Llugany et al., 2003). К клеточным механизмам устойчивости относят удаление токсичных ионов через плазмалемму в апопласт, связывание и обезвреживание токсичных ионов в цитоплазме различными хелаторами, компартментацию свободных ионов и комплексов в вакуоль. Важную роль в металлоустойчивости играет также антиоксидантная система клетки.

Начало исследований механизмов устойчивости растений к тяжелым металлам относится к 50-м годам прошлого века, когда впервые по целому ряду физиологических показателей и процессов были выявлены различия между растениями, произрастающими на загрязненных и не загрязненных металлами почвах.

В этой главе обобщены известные на сегодняшний день сведения, касающиеся перечисленных механизмов устойчивости растений к тяжелым металлам, включая данные, полученные методами молекулярной биологии.

### **3.1. Роль ризосферы и арбускулярной микоризы в устойчивости растений к тяжелым металлам**

В настоящее время многие исследователи отводят заметную роль в повышении устойчивости растений к тяжелым металлам ризосфере – слою почвы, непосредственно прилегающему к корням. В этом слое осуществляется корневое дыхание растений, выделение ионов  $H^+$  и корневых экссудатов, потребление воды и элементов минерального питания (Wenzel et al., 2003). При этом химические процессы, происходящие на границе почва – корень, оказывают заметное влияние на доступность и поступление тяжелых металлов в растения. В свою очередь, корни растений также влияют на ризосферу, изменяя концентрацию химических элементов в почве, pH почвенной среды, формы комплексов органических кислот с элементами минерального питания, в том числе с металлами (Hinsinger, 1998; Tao et al., 2004). Например, большинство растений снижают pH ризосферы, усиливая доступность катионов необходимых им металлов (Delorme et al., 2001). Помимо этого растения выделяют в ризосферу целый ряд соединений, связывающих ионы тяжелых металлов и осаждающих их на поверхности корня. Такими соединениями являются органические кислоты, аминокислоты, фенолы, фитосидерофоры, пептиды, ферменты (в частности, редуктазы). В результате этого создается своеобразный барьер для проникновения свободных токсичных ионов в клетки корня растений (Чиркова, 2002; Wenzel et al., 2003; Xiong et al., 2008).

Участие низкомолекулярных органических кислот, входящих в состав корневых выделений, в поглощении тяжелых металлов и в процессе повышения устойчивости к ним растений в настоящее время активно изучается. Установлено, что органические кислоты, такие как цитрат, малат и оксалат, оказывают заметное влияние на содержание в растениях тяжелых металлов, являющихся микроэлементами (железо, никель, цинк), за счет повышения их доступ-

ности и увеличения поглощения (Liao, Xie, 2004). Так, обнаружена высокая скорость поступления в растения комплексов меди и цинка с органическими кислотами у растений шпината и томатов (Degryse et al., 2008). Но вместе с металлами-микроэлементами может усиливаться и поглощение токсичных металлов, например, кадмия и свинца (Collins et al., 2003). В частности, у сортов риса с высоким содержанием кадмия в растениях концентрация органических кислот в ризосфере оказалась выше, чем у сортов с низким его содержанием (Liu et al., 2007). Вместе с тем имеются сведения и о том, что хелатирование органическими кислотами ионов тяжелых металлов в ризосфере, наоборот, снижает их доступность, предотвращает поступление в клетки корня (Mench, Martin, 1991), способствуя возрастанию устойчивости растений к металлам (Salt, 2001). Так, повышение устойчивости растений *A. thaliana* к меди корреспондировалось с быстрым увеличением уровня цитрата в корневых выделениях, а повышение устойчивости к свинцу – с увеличением уровня оксалата (Ryan et al., 2001).

Необходимо отметить, что с различиями в количестве секретируемых корнями органических кислот связывают и существенные различия в способности к поглощению тяжелых металлов между видами гипераккумуляторами и неаккумуляторами. Например, в присутствии кадмия растения гипераккумулятора *Solanum nigrum* выделяют гораздо больше кислот, чем *S. lycopersicum*, который не является гипераккумулятором (табл. 8), что, как полагают, является одной из причин большего количества поступающих в них ионов металла (Bao et al., 2011).

Таблица 8. Содержание органических кислот в корневых выделениях *Solanum nigrum* L. и *S. lycopersicum* L. в присутствии кадмия (20 мкМ) (по: Bao et al., 2011)

Органическая кислота	Содержание органических кислот, мкМ/г сухого веса корня	
	<i>S. nigrum</i>	<i>S. lycopersicum</i>
Ацетат	59.46	48.49
Цитрат	29.56	14.56
Малат	20.56	7.26
Оксалат	2.59	1.89

Примечание. Все различия между видами достоверны при  $P < 0.05$ .

Растения семейства *Poaceae* выделяют в ризосферу фитосидерофоры – органические вещества, которые синтезируются из метионина и принадлежат к семейству мугеиновых кислот. Основной функцией фитосидерофоров считается хелатирование  $\text{Fe}^{3+}$ , необходимое для лучшего его поглощения (Haydon, Cobbett, 2007). При этом обнаружено, что уровень экспрессии генов белков, участвующих в биосинтезе этих кислот, возрастает при дефиците железа в растениях (Nagasaka et al., 2009). Помимо железа фитосидерофоры играют важную роль и в поглощении цинка, как это было обнаружено у ячменя и риса (Suzuki et al., 2008). Причем у риса они участвуют еще и в распределении данного металла по растению. Имеются сведения и об усилении поглощения растениями кадмия. Так, выделение фитосидерофоров в ризосферу растениями сорго, пшеницы (Römheld, Awad, 2000) и кукурузы (Kochian, 2000) приводило к увеличению количества металла в клетках их корней. Вместе с тем высказано мнение, что выделение фитосидерофоров корнями злаков может препятствовать поглощению растением некоторых металлов, не являющихся жизненно необходимыми для растений, за счет связывания их ионов в ризосфере (Hall, 2002).

В последние десятилетия с целью экстракции тяжелых металлов из загрязненных почв в ризосферу вносят искусственные хелатирующие вещества – ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) или ее гидроксид, которые способствуют поступлению токсичных ионов (в частности,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) в растения, что важно для успешной фиторемедиации, особенно при высоких концентрациях в почве металлов с низкой подвижностью, таких как, например, свинец (Blaylock, Huang, 2000).

В настоящее время доказано, что помимо выделения клетками корня в ризосферу различных хелаторов, на устойчивость растений к тяжелым металлам влияет и их взаимодействие с микроорганизмами ризосферы (Burd et al., 2000; Belimov et al., 2005). При этом показано, что в присутствии ризобактерий рост растений, замедленный действием токсичных ионов, восстанавливается за счет улучшения всасывания необходимых элементов минерального питания и изменения баланса фитогормонов, в частности, ограничения синтеза этилена и стимулирования синтеза ИУК (Belimov et al., 2001; Safronova et al., 2006; Ma et al., 2009). В экспериментах

Конместо с соавт. (Contesto et al., 2008) было показано, что у растений *A. thaliana*, произрастающих в условиях повышенного содержания никеля в корнеобитаемой среде в присутствии 4 видов ризобактерий (*Phyllobacterium brassicacearum* STM196, *Pseudomonas putida* UW4, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 128C53K и *Mesorhizobium loti* MAFF303099), длина корневых волосков увеличивается в 2–3 раза, тогда как у растений, произраставших только на субстрате с металлом, наблюдалось ингибирование роста корня. Аналогичный результат был получен при использовании штамма ризобактерий *Pseudomonas mendocina* ВКМВ 1299 для снижения ингибирующего действия меди, хрома и свинца в отношении роста корней и побегов растений томатов (Садруня и др., 2011). Как полагают, подобный эффект связан с увеличением активности фермента 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат-деаминазы, участвующего в гидролизе этилена.

Ризобактерии могут также выделять органические молекулы – сидерофоры, способствующие связыванию металлов в ризосфере (Lodewyckx et al., 2002). Например, выделение сидерофоров наблюдалось у эндофитных бактерий из ризосферы растений *Pteris vittata* (Liu et al., 2009) и *Thlaspi praecox* (Vogel-Mikuš et al., 2006).

Ризобактерии уменьшают отрицательное влияние тяжелых металлов на растения и за счет связывания токсичных ионов в клеточной стенке микроорганизмов. Способность связывать металлы описана для многих типичных представителей ризосферной микрофлоры: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* и др. (Robinson et al., 2001; Белимов и др., 2004; Hu, Zhao, 2007). К примеру, карбоксильные группы в клеточной стенке бактерий рода *Pseudomonas* обеспечивают связывание до 100 мкг Cd на 1 мг биомассы (Komy et al., 2006).

Интересно, что устойчивость к тяжелым металлам самих ризобактерий различна (Белимов, Тихонович, 2011). Обнаружено, что ризобактерии, изолированные с поверхности корня гипераккумулятора *Thlaspi caerulescens*, обладали более высокой устойчивостью к кадмию и цинку по сравнению с ризобактериями, обитающими на поверхности корней *T. arvenses* (Delorme et al., 2001). Из ризосферы гипераккумулятора *Alyssum murale* были выделены

устойчивые к никелю бактерии рода *Sphinomonas* и *Microbacterium*, которые продуцировали органические кислоты и сидерофоры и повышали содержание подвижной формы Ni в почве и в растениях (Abou-Shanab et al., 2003).

Нельзя не отметить и участие **арбускулярной микоризы** (форма симбиоза арбускулярных микоризных грибов с корнями растений) в поглощении тяжелых металлов корнями растений и формировании их металлоустойчивости. Арбускулярная микориза – наиболее широко распространенный тип микоризы, встречающийся у более чем 80 % видов растений; ее образуют примерно 120 видов грибов, принадлежащих к отделу Гломеромицетов (*Glomeromycota*) (рис. 8). Существенный вклад грибов микоризообразователей в устойчивость растений к тяжелым металлам обеспечивается их способностью к связыванию и детоксикации ионов металлов как в клетке, так и вне ее (Багаева и др., 2013).



Рис. 8. Пример арбускулярной микоризы в корнях растений *Trifolium perforata* (фото: [www.sciencedaily.com](http://www.sciencedaily.com))



Внеклеточное хелатирование обусловлено тем, что многие органические метаболиты грибов могут связываться с ионами тяжелых металлов, осаждая их на поверхности корня. Примерами таких метаболитов являются щавелевая и лимонная кислоты, сидерофоров, рибофлавин (Ross, Kaye, 1994). Эффективным хелатором показал себя также гликопротеин гломалин, который выделяется гифами грибов и связывает ионы некоторых металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ ) в почве (Gonzalez-Chaves et al., 2004).

Кроме того, различные компоненты структуры и состава клеточной стенки у грибов также могут участвовать в связывании тяжелых металлов. Так, известно, что хелатирующими свойствами обладают некоторые полисахариды, например, глюканы, хитин и хитозан (Sharp, 2013).

Внутри клеток гифов грибов ионы тяжелых металлов могут связываться тиолами (Galli et al., 1995). Авторы отмечали, что при увеличении концентрации тяжелых металлов в почве в клетках микоризных грибов *Glomus intraradices* на корнях растений кукурузы возрастает содержание цистеина,  $\gamma$ -глутамилцистеина и глутатиона.

Обнаружено также положительное влияние арбускулярной микоризы на синтез глутатиона в клетках растений в присутствии тяжелых металлов в окружающей среде. В частности, инокуляция растений *Cajanus cajan* (L.) Millsp. арбускулярной микоризой (*Sinorhizobium fredii* с *Glomus mosseae*) заметно усиливала синтез этого тиола в корне при действии кадмия и цинка, что приводило к повышению металлоустойчивости (Garg, Kaur, 2013) (рис. 9).

Помимо хелатирования токсичных ионов, хорошо развитая микориза может способствовать выживанию растения в неблагоприятных условиях среды за счет увеличения доступности необходимых элементов, таких как железо, медь и цинк, повышения устойчивости к болезнетворным микроорганизмам, стимуляции синтеза фитогормонов (Zaidi, Musarrat, 2004; Багаева и др., 2013). Причем некоторые виды микоризы не только способствуют повышению металлоустойчивости тех растений, с которыми грибы находятся в симбиозе, но и формируют довольно высокую собственную устойчивость к тяжелым металлам. Особенно это касается микоризы на корнях растений-гипераккумуляторов (Adriaensen et al., 2006).

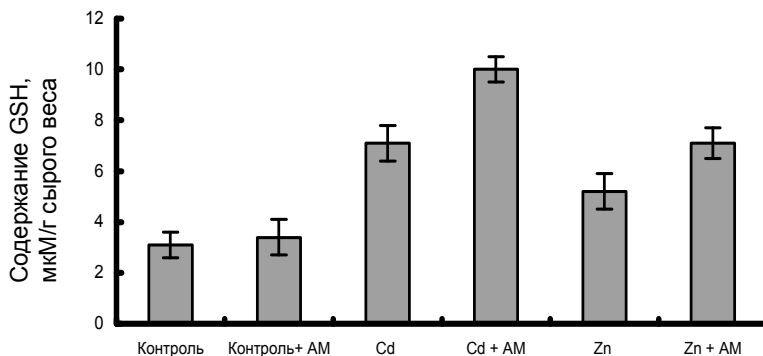


Рис. 9. Влияние арбускулярной микоризы (АМ) на содержание глутатиона в клетках корня растений *Cajanus cajan* при действии кадмия (450 мкМ) и цинка (15 мМ) (по: Garg, Kaur, 2013)

Укажем также на существование видовых различий и различий, связанных с конкретным металлом, в участии микоризных грибов в повышении металлоустойчивости растений (Lasat, 2002).

Таким образом, в условиях повышенного содержания тяжелых металлов в почве ризосфера участвует в увеличении устойчивости растений к их негативному воздействию. При этом ее участие в механизмах устойчивости заключается в хелатировании токсичных ионов в почве за счет выделения корнями низкомолекулярных веществ (сахаров, аминокислот, органических кислот, фитосидерофоров и т. д.), а также связано с деятельностью ризобактерий, способствующих восстановлению роста растений в условиях высоких концентраций тяжелых металлов в окружающей среде. Роль арбускулярной микоризы в механизмах устойчивости заключается в увеличении адсорбции и иммобилизации металлов в клеточных стенках микоризных грибов, в результате чего уменьшается содержание токсичных ионов в растениях, что способствует их нормальному росту и развитию и стабилизации растительных сообществ в целом в условиях загрязнения почв тяжелыми металлами. Однако при очень высоком содержании тяжелых металлов в почве, например, вблизи металлургических предприятий и на рудниковых почвах более эффективной защитой от их токсического действия являются все-таки ризобактерии, а не арбускулярные грибы,

поскольку при таких концентрациях колонии микоризных грибов у растений не формируются (Gharemaleki et al., 2010; Karimi et al., 2011).

Следует также отметить, что симбиоз растений и микроорганизмов может быть одним из наиболее важных ресурсосберегающих и экологически безопасных приемов для повышения эффективности технологий фиторемедиации. Более того, регуляция поступления тяжелых металлов в растения с помощью микроорганизмов может лежать в основе различных стратегий преодоления экологических последствий загрязнения почвы этими элементами.

### **3.2. Роль клеточной стенки в ограничении поступления тяжелых металлов в клетку и устойчивости к ним растений**

Важным механизмом, предотвращающим поступление тяжелых металлов в растения, является связывание токсичных ионов структурными элементами клеточной стенки (Regvar, Vogel-Mikuš, 2008). Клеточные стенки, как известно, сложноорганизованные, многофункциональные и динамичные системы, состав и организация которых изменяются в процессе онтогенеза растений и под влиянием факторов окружающей среды (Мейчик, 2007). Клеточная стенка является той структурой, через которую осуществляется взаимосвязь растительного организма с внешней средой. Ее значимость усиливается в экстремальных климатических условиях и в условиях загрязнения окружающей среды (Vázquez, Leonardi, 1999; Macfie, Welbourn, 2000). Помимо этого клеточная стенка является активным метаболическим компартментом, где в ответ на внешний стимул генерируются важнейшие сигнальные молекулы (Arduini et al., 1996).

Еще в конце 70-х – начале 80-х годов прошлого века было установлено, что клеточные оболочки растений и их катионообменная способность играют важную роль в поглощении корнями таких тяжелых металлов, как кадмий (Dabin et al., 1978; Khan et al., 1984), свинец и цинк (Haynes, 1980). Тогда же было высказано предположение, которое впоследствии было подтверждено многочисленными экспериментами, что клеточная оболочка способна связывать

ионы тяжелых металлов, снижая их токсичность и задерживая поступление в клетку.

В настоящее время установлено, что вклад клеточной стенки в детоксикацию тяжелых металлов может быть гораздо значительнее, чем вклад других клеточных компартментов (Vázquez et al., 2006). При этом у разных растений обнаруживаются отчетливо выраженные видовые различия в способности клеточной стенки удерживать токсичные ионы. Например, доля кадмия, удерживаемая в клеточных стенках корней люпина, в зависимости от концентрации металла в субстрате (20, 40 или 60 мкМ), составляла от 30 до 42 % от его общего содержания в клетке (Vázquez et al., 2006). Аналогичные данные получены также для бобов, тогда как у кукурузы выявлены гораздо более низкие значения – только 16–20 % (Guo et al., 1995). В клеточных стенках *Chrysanthemum coronarium* и *Sorghum sudanense* обнаружено соответственно 60 и 80 % ионов меди от их общего количества, поступившего в клетки корня (Wei et al., 2008a). Доказано, что видовые различия в накоплении тяжелых металлов в клеточных стенках связаны с их разной способностью к адсорбции ионов металлов. По данным Н. Р. Мейчик с соавт. (Мейчик и др., 2011), способность клеточных стенок к адсорбции в отношении никеля изменяется в ряду: злаковые < маревые < бобовые. При этом клеточная стенка у бобовых, как правило, имеет более высокую катионообменную способность, чем у злаков, что объясняется более высоким (в 2–3 раза) содержанием карбоксильных групп (Meychik, Yermakov, 1999). Обменная способность клеточных стенок неодинакова также для разных тяжелых металлов, например, она более высокая для меди и кадмия по сравнению с цинком (Nishizono et al., 1987), и для различных их концентраций. Так, в присутствии более низких концентраций тяжелых металлов в корнеобитаемой среде доля токсичных ионов, удерживаемых клеточной стенкой, оказывается гораздо выше, чем при их действии в более высоких концентрациях. Например, у перца при низких концентрациях кадмия в корнеобитаемой среде 90 % поступившего металла задерживалось в клеточной стенке, тогда как при высоких концентрациях – только около 20 % (Garcia-Gomez et al., 2002). Аналогичные данные получены и на растениях люпина (Vázquez et al., 2006).

Тяжелые металлы могут взаимодействовать с карбоксильными и сульфгидрильными группами белков, входящих в состав клеточной

оболочки. Считается, что образование комплексов тяжелых металлов с белками клеточной стенки является одним из главных механизмов, обеспечивающих их детоксикацию (Leita et al., 1996; Krämer, 2000; Шевякова и др., 2003). Кроме того, металлы в клеточной стенке связываются с целлюлозой (Morrison et al., 1981), а также с большим количеством карбоксильных групп пектинов и гликопротеинов (Sanità di Toppi, Gabbrielli; 1999; Philip et al., 2000). В этой связи необходимо подчеркнуть, что главным структурным компонентом пектиновых веществ является полигалактуроновая кислота, с наличием карбоксильных групп которой и связывают способность клеточной стенки к адсорбции (Мейчик и др., 2011). Обнаружена также корреляционная зависимость между поступлением тяжелых металлов в клеточную стенку растений и содержанием уроновых кислот, входящих в состав гемицеллюлоз (Singh et al., 1997).

Помимо связывания ионов тяжелых металлов различными лигандами, клеточная стенка способна снижать проникновение их ионов в протопласт благодаря изменению своих физико-химических свойств. В частности, у некоторых видов злаков усиливается суберинизация оболочек клеток эндодермы (рис. 10) и лигнификация клеток коры и периферических тканей проводящего цилиндра (Lux et al., 2011). В корнях кукурузы под влиянием кадмия почти в 3 раза увеличивалась толщина слоя эндодермального суберина и в 2 раза – эндодермального лигнина (Schreiber et al., 1999). Экспозиция на растворе с кадмием приводила у растений *A. thaliana* к формированию субериновых ламелл, которые защищают апекс корня (Schreiber et al., 1999). У кукурузы увеличение устойчивости растений к кадмию коррелировало с усиленным отложением суберина в клеточной стенке клеток эндодермы корня (Redjala et al., 2011). Имеются также сведения о том, что в присутствии тяжелых металлов клеточная стенка пропитывается силикатами, как, например, в присутствии кадмия у *Silene vulgaris* (Bringezu et al., 1999) и у риса (Lux et al., 1999). Под влиянием свинца увеличивается толщина клеточной стенки корней лука, в ней возрастает количество полисахаридов, что позволяет связывать большее количество ионов металла (Wierzbicka, 1998). Обнаруженные изменения, как полагают авторы, способствуют снижению апопластического движения тяжелых металлов в ксилему и их перемещению в надземные органы.

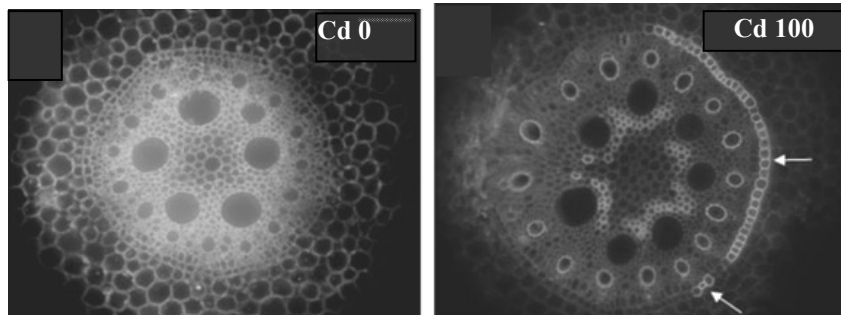


Рис. 10. Суберинизация клеток эндодермы корней кукурузы в присутствии кадмия (100 мкМ). Стрелками показан слой суберина (по: Lux et al., 2011)

Связывание тяжелых металлов клеточной стенкой выявлено для клеток не только корня, но и листа (Brune et al., 1994; Lozano-Rodríguez et al., 1997; Ramos et al., 2002). Например, доля кадмия, локализованного в клеточной стенке листьев салата, составила 64 % от его общего содержания в клетке (Ramos et al., 2002), а доля цинка, прочно связанного в клеточной стенке листьев ячменя, оказалась еще выше – 77 % (Brune et al., 1994). Но в целом адсорбционная способность клеточной стенки клеток корня, как правило, выше, чем у клеток стебля и листьев (Vázquez et al., 2006).

К настоящему времени опубликован целый ряд работ, доказывающих наличие хорошо выраженной зависимости между уровнем накопления токсичных ионов в клеточной стенке и устойчивостью растений к тяжелым металлам. В частности, обнаружено, что у устойчивых к кадмию сортов риса концентрация металла в клеточных стенках корня была заметно выше по сравнению с его количеством в вакуоли, чем у растений чувствительных сортов (Uraguchi et al., 2009). У гипераккумуляторов, таких как *Sedum alfredii* и *T. caerulescens*, которые обладают устойчивостью к кадмию, гораздо более высокое содержание металла также обнаруживалось в клеточных стенках по сравнению с другими компартментами (Li et al., 2007; Redjala et al., 2009). Более того, некоторые устойчивые к тяжелым металлам виды растений в их присутствии увеличивают катионообменную способность клеточных стенок, обеспечивая тем самым связывание большего количества металла (Nyquist, Greger, 2009).

В целом клеточная стенка, которая может рассматриваться в качестве низкоспецифичного ионообменника с относительно высокой связывающей способностью для катионов тяжелых металлов, играет очень важную роль в механизмах металлоустойчивости растений. И лишь в случае действия высоких концентраций тяжелых металлов клеточная стенка достигает своеобразного «насыщения», в результате чего ее барьерные функции существенно снижаются, и она уже не способна должным образом защищать клетку от их токсического воздействия.

### **3.3. Участие плазмалеммы в устойчивости растений к тяжелым металлам**

Плазмалемма (плазматическая мембрана) является первой «живой» мишенью воздействия тяжелых металлов на клетку, поэтому любые взаимодействия ионов металлов с клеткой отражаются в первую очередь на ее структуре и функциях (Kenderešová et al., 2012).

Хорошо известно, что плазмалемма – это основной барьер для транспорта ионов тяжелых металлов в цитоплазму клетки и из нее, который проходит с участием целого ряда интегральных белков, являющихся структурным элементом мембраны. Механизмы поступления ионов металлов в клетку растения через плазматическую мембрану активно изучаются, и на сегодняшний день по этому вопросу имеется уже довольно большое число публикаций, в том числе обзорного характера (Clemens et al., 2002; Hall, Williams, 2003; Krämer et al., 2007; Verbruggen et al., 2009; Hossian et al., 2012 и др.). Несмотря на это, ее роль в металлоустойчивости растений до сих пор активно обсуждается. В частности, выявлено, что участие плазмалеммы в механизмах устойчивости растений к тяжелым металлам связано, во-первых, с задержкой поступления ионов металлов в клетку при увеличении их содержания во внешней среде и, во-вторых, с удалением катионов металлов из клетки при повышении их концентрации во внутриклеточном пространстве (Hall, 2002).

Задержка поступления токсичных ионов в клетку может быть связана с изменением липидного состава плазмалеммы при дей-

ствии на растения тяжелых металлов. В частности, обнаружено, что у устойчивых к металлам видов растений наблюдаются изменения в составе липидов (увеличивается количество гликолипидов и уменьшается – фосфолипидов) и жирных кислот (увеличивается количество ненасыщенных жирных кислот), направленные на поддержание целостности и нормальной структурированности клеточной мембраны и, как результат, на сохранение контроля за транспортом токсичных ионов в клетку (Nouairi et al., 2006; Кузнецова и др., 2008; Розенцвет и др., 2011; Morsy et al., 2012).

Активный транспорт тяжелых металлов из клетки корня через плазмалемму за счет энергизации мембраны посредством активации АТФаз показан ранее для таких катионов, как  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  (Burzyński et al., 2005; Migocka, Kłobus, 2007). В исследованиях этих авторов, выполненных на везикулах корней огурца, впервые были представлены экспериментальные доказательства существования на плазматической мембране металл/ $\text{H}^+$  антипорта, сходного с белками, расположенными на тонопласте (например, из САХ- и CDF-семейств). Его активность заметно повышалась при увеличении концентрации тяжелых металлов в окружающей среде. Авторы также доказали, что АТФ-зависимый транспорт кадмия через плазмалемму гораздо менее эффективный, чем такой же транспорт через тонопласт (Migocka et al., 2011). Возможно, изначально белки плазмалеммы, участвующие в транспорте кадмия, имели более высокое сродство к металлу и гораздо меньшую способность для его вывода из клетки по сравнению с АТФ-зависимым транспортом кадмия в вакуоли.

Помимо этого, уменьшение количества поступивших в клетку через плазматическую мембрану катионов тяжелых металлов может являться следствием деполяризации мембраны – сдвига электрического потенциала в сторону более положительных значений (Nichol et al., 1993; Pavlovkin et al., 2006). Так, высокие концентрации цинка в среде роста вызывали значительное увеличение уровня деполяризации мембраны в клетках корня *A. thaliana* (рис. 11), в результате чего наблюдалось снижение поступления избыточных ионов металла в клетки. При этом у *A. halleri*, который является



гипераккумулятором цинка, уровень деполяризации повышался в гораздо меньшей степени (Kenderešová et al., 2012). Подобные изменения были обнаружены также в клетках корня риса в присутствии в корнеобитаемой среде высоких концентраций кадмия и никеля (Ros et al., 1992) и в корнях огурца – при действии кадмия и меди (Janicka-Russak, 2011).

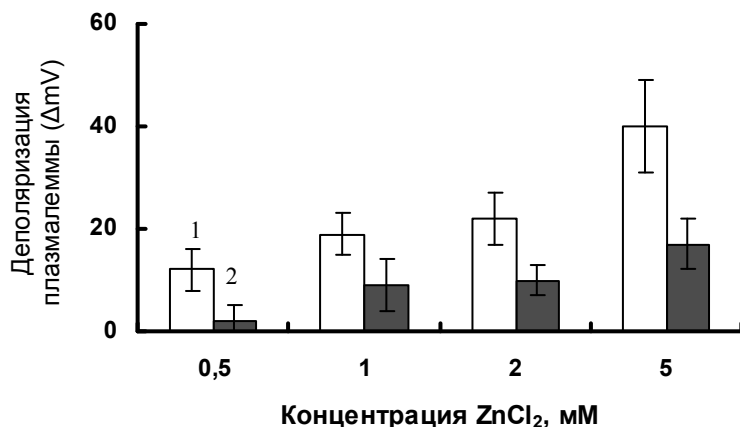


Рис. 11. Деполяризация плазмалеммы клеток коры корня *Arabidopsis thaliana* (1) и *Arabidopsis halleri* (2) в присутствии разных концентраций цинка (по: Kenderešová et al., 2012)

Высказано мнение, что изменение градиента электрохимического потенциала на плазмалемме в присутствии тяжелых металлов может служить лучшим показателем ингибирования ими активности АТФазы у растений *in vivo* (Llamas et al., 2000).

Интересные данные были получены при изучении ультраструктуры клетки меристемы корня *Allium sativum* в присутствии высоких концентраций свинца (Jiang, Liu, 2010). Авторы обнаружили инвагинации плазматической мембраны во внутриклеточное пространство и рядом расположенные везикулы, содержащие большое количество ионов металла. Предполагается, что это может являться одним из важных механизмов предотвращения передвижения свободных ионов свинца в цитоплазму и органоиды клетки (рис. 12).

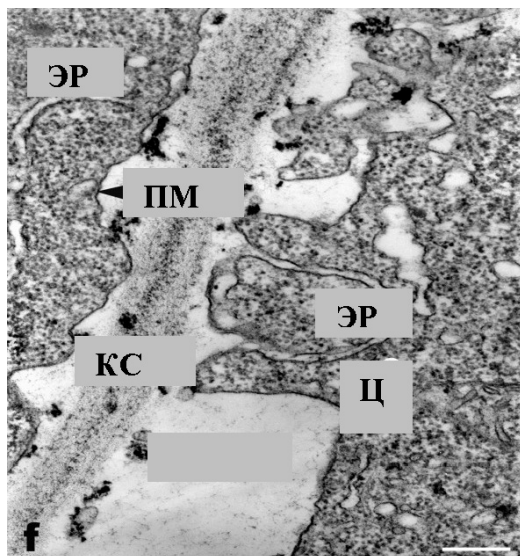


Рис. 12. Ультраструктурные изменения в меристематических клетках корня *Allium sativum*. Инвагинации цитоплазматической мембраны (отмечено стрелкой) после 4-часовой обработки ионами свинца (0,1 мкМ):

КС – клеточная стенка, ПМ – плазмалемма, Ц – цитоплазма, ЭР – эндоплазматический ретикулум.  
Bar = 0,25 мкм (по: Jiang, Liu, 2010)

Транспорт ионов тяжелых металлов через плазмалемму из клетки осуществляется с участием белков-транспортеров, принадлежащих к разным семействам, которые поддерживают равновесие между содержанием ионов металлов в апопласте и внутри клетки (Krämer et al., 2007; Maestri et al., 2010). Этот механизм снижения токсического действия тяжелых металлов довольно хорошо изучен у дрожжей, бактерий (Silver, 1996), а также у животных (Palmiter, Findley, 1995). Растительная клетка в этом плане исследована в гораздо меньшей степени.

Тем не менее предполагается (на основе сходства аминокислотных последовательностей с микробными и животными белками), что наиболее вероятными кандидатами на роль белков-транспорте-

ров, осуществляющих перенос токсичных ионов через плазмалемму в апопласт, являются белки из семейств P<sub>1B</sub>-АТФаз и ABC (*ATP-binding cassette*) (Axelsen, Palmgren, 2001; Mills et al., 2005; Kim et al., 2007; Tan et al., 2013). Однако биологические функции, клеточная локализация и металлоспецифичность этих транспортеров в растениях до сих пор полностью не изучены.

Из P<sub>1B</sub>-АТФаз в качестве возможных переносчиков тяжелых металлов через плазматическую мембрану из клетки называются НМА2- и НМА4-белки (*heavy metal ATPase*), участвующие в транспорте Cd<sup>2+</sup> и Zn<sup>2+</sup> (Argüello et al., 2007; Tan et al., 2013). В частности, обнаружено, что высокий уровень экспрессии гена *AtHMA4*, введенного в клетки дрожжей, повышает их устойчивость к кадмию и цинку, при этом содержание металлов в клетках снижается. По мнению авторов, это доказывает возможность работы НМА4-белка как транспортера, осуществляющего передвижение ионов металлов из клетки (Mills et al., 2005).

Получены также данные о возможном участии в удалении ионов тяжелых металлов из клетки белка-транспортера PDR8 (*playotropic drug resistance*), локализованного на плазмалемме и принадлежащего к ABC-семейству. Этот белок идентифицирован в клетках корневых волосков и клетках эпидермиса корня растений *A. thaliana* (Kim et al., 2007). При этом трансгенные растения с повышенной экспрессией гена *AtPDR8* оказались более устойчивыми к кадмию и свинцу по сравнению с диким типом и не накапливали металлы в корнях и побегах.

В плазматической мембране клеток табака (*Nicotiana tabacum*) обнаружен переносчик никеля (NtCBP4), относящийся к семейству СВР-белков (*CREB-binding protein*), который по структуре сходен с калиевыми неселективными ионными каналами (Arazi et al., 1999). Трансгенные растения с повышенным уровнем экспрессии гена *NtCBP4* характеризовались повышенной устойчивостью к Ni и снижением его аккумуляции, что указывает на участие этого транспортера в увеличении устойчивости растений к никелю за счет удаления избыточных ионов из клетки.

В ряде исследований показана также возможность вывода тяжелых металлов из клеток за счет транспорта их ионов через плазмалемму в свободное пространство в антипорте с протоном, аналогич-

но механизму, существующему у животных клеток и микроорганизмов (Silver, 1996; Xu et al., 2007). Так, при введении гена *Escherichia coli ZntA*, кодирующего протонную помпу, осуществляющую транспорт  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  в антипорте с  $\text{H}^+$ , в клетки *A. thaliana* у растений увеличивалась устойчивость к кадмию и свинцу и одновременно снижалось содержание металлов в клетке (Lee et al., 2003a). Китайские ученые (Shen et al., 2012) также высказали предположение об участии транспортного белка СХХЗ из семейства СХХ (*cation exchanger*), которые функционируют как  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортер, в транспорте ионов кадмия из клетки в межклеточное пространство, что способствует повышению устойчивости растений к кадмию. Однако фактических доказательств этому пока очень мало.

У растений из семейства *Poaceae*, в частности у пшеницы, выделен белок-транспортёр TaTM 20 (*Triticum aestivum transmembrane 20*) (Kim et al., 2008), который также осуществляет транспорт катионов металлов из клетки. Предполагается, что он является антипортером и осуществляет транспорт ионов тяжелых металлов за счет энергии протонного градиента. Интересно, что у других видов растений, например *A. thaliana*, он не обнаружен, на основании чего авторы не исключают возможность его функционирования только у однодольных растений.

В целом можно сделать вывод о том, что плазмалемма безусловно играет важную роль в обеспечении устойчивости растений к тяжелым металлам. Вместе с тем имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в этой области.

### 3.4. Детоксикация тяжелых металлов в клетке

Несмотря на функционирование целого ряда механизмов, препятствующих поступлению тяжелых металлов в клетки растений, при высоких их концентрациях в окружающей среде значительное количество токсичных ионов все-таки проникает в клетку, где в этом случае начинают действовать внутриклеточные механизмы их детоксикации, которые включают в себя связывание ионов тяжелых металлов в цитоплазме различными лигандами и транспорт таких комплексов и свободных ионов в вакуоль.

### 3.4.1. Связывание ионов тяжелых металлов в цитоплазме

Одним из наиболее важных механизмов детоксикации тяжелых металлов в клетке является их связывание в цитоплазме с образованием хелатов – комплексных соединений ионов металлов с органическими лигандами (Wagner, 1993; Prasad, 1995; Rauser, 1999; Clemens et al., 2002; Haydon, Cobbett, 2007). Лигандами (соединениями, образующими с металлом хелат) могут быть органические кислоты (Rauser, 1999; Haydon, Cobbett, 2007), аминокислоты (Krämer et al., 1996), непротеиновые тиолы (глутатион и фитохелатины) (Rauser, 1995; Cobbett, 2000) и металлотионеины (Rauser, 1999; Clemens, 2001).

**Органические кислоты**, такие как цитрат (лимонная кислота), малат (яблочная кислота) или оксалат (щавелевая кислота), способны образовывать прочные связи с ионами тяжелых металлов и благодаря этому играть важную роль в металлоустойчивости растений (Rauser, 1999). Еще в 1976 г. Эрнст (Ernst, 1976) обнаружил высокие концентрации малата и цитрата в тканях растений, устойчивых к цинку и меди. В дальнейшем повышение уровня этих кислот в присутствии разных тяжелых металлов отмечалось в целом ряде исследований. Например, возрастание содержания яблочной, лимонной и щавелевой кислот в побегах райграсса, корнях кукурузы и листьях ячменя было обнаружено при повышенных концентрациях в корнеобитаемой среде никеля (Yang et al., 1997; Jócsák et al., 2005), яблочной и щавелевой – в листьях растений *Paraserianthes falcataria* при действии свинца (табл. 9) (Setyaningsih et al., 2012). При этом выявлено, что эффективность хелатирования тяжелых металлов органическими кислотами и связанное с этим повышение металлоустойчивости растений зависит от токсичности металла, а также от биологических особенностей вида растений. Например, у *Agrostis bertolonii*, *Alyssum bertolonii* и *S. vulgaris* в присутствии цинка и никеля увеличивалось содержание малата, которое у *A. bertolonii* и *S. vulgaris* сопровождалось повышением устойчивости к цинку, а у *A. bertolonii* – к никелю (Ernst et al., 1992; Schat, Ten Bookum, 1992).

Из упомянутых выше органических кислот цитрат имеет бóльшую способность к связыванию ионов тяжелых металлов, чем малат и оксалат. Давно известно, что лимонная кислота играет

Таблица 9. Влияние свинца на содержание органических кислот в листьях *Paraserianthes falcata* (по: Setyaningsih et al., 2012)

Концентрация Pb <sup>2+</sup> , мМ	Содержание органических кислот, мг/г сырого веса		
	Оксалат	Малат	Цитрат
0 (контроль)	0.118 ± 0.045	0.225 ± 0.012	1.731 ± 0.049
0.5	0.106 ± 0.032	0.264 ± 0.049*	1.506 ± 0.013*
1.0	0.140 ± 0.024*	0.261 ± 0.005*	1.732 ± 0.203
1.5	0.147 ± 0.028*	0.268 ± 0.046*	1.586 ± 0.058

Примечание. \* – изменения по отношению к контролю достоверны при  $P < 0.05$ .

чрезвычайно важную роль в хелатировании Fe<sup>2+</sup> (Cataldo et al., 1988). Позднее было доказано и ее участие в связывании других ионов тяжелых металлов, в частности, кадмия при его относительно низких концентрациях в корнеобитаемой среде (Wagner, 1993), цинка и кобальта при их присутствии в высоких концентрациях (Godbold et al., 1984; Oven et al., 2002). Известны также комплексы цитрата с никелем (Sagner et al., 1998; Tatár et al., 2000). К настоящему времени созданы трансгенные растения табака с высоким уровнем цитрата в клетках: содержание кислоты в корнях таких растений выше, чем у растений дикого типа, почти в 10 раз, при этом в 4 раза возрастает количество цитрата, выделяемого их корнями в ризосферу. Помимо этого трансгенные растения характеризуются более высокой металлоустойчивостью, что, по мнению авторов, косвенно доказывает участие этой кислоты в механизмах устойчивости растений к тяжелым металлам (De la Fuente et al., 1997).

В отношении малата и оксалата данных в литературе гораздо меньше, хотя в цитоплазме клеток растений зафиксировано повышение их содержания при действии целого ряда тяжелых металлов и обнаружены комплексы этих кислот с цинком, кадмием и никелем (Zhang et al., 2001; Sarret et al., 2002). Так, в присутствии цинка заметно возрастало содержание малата в корнях растений *Thlaspi ochroleucum* (Shen et al., 1997), при действии кадмия повышался уровень оксалата в корнях *A. thaliana* (Sarret et al., 2002). Существует мнение, что малат является основным хелатором цинка у растений, устойчивых к этому металлу (Mathys, 1977).

Необходимо также отметить, что органические кислоты участвуют в дальнем транспорте ионов металлов по растению, что важно для видов-гипераккумуляторов (Rauser, 1999).

Помимо органических кислот в связывании тяжелых металлов участвуют и **аминокислоты**, в первую очередь, гистидин и никотинамин, комплексы которых с ионами металлов обнаружены в цитоплазме (Hall, 2002; Haydon, Cobbett, 2007).

Считают, что гистидин – наиболее важная аминокислота, участвующая в детоксикации тяжелых металлов в клетке. Благодаря наличию карбоксильных, amino- и имидозольных групп он является хелатором многих двух- и трехвалентных катионов. Так, обнаружены комплексы гистидина с никелем, цинком, кадмием и доказано его участие в повышении устойчивости к этим металлам целого ряда видов растений (Salt et al., 1999; Callahan et al., 2006). Однако имеющиеся в настоящее время по этому вопросу данные касаются, в основном, растений-гипераккумуляторов. Например, показано увеличение содержания гистидина в клетках корня гипераккумулятора *T. caerulescens* в присутствии в субстрате высоких концентраций цинка, при этом в цитоплазме клеток обнаружены Zn-гистидиновые комплексы (Salt et al., 1999). Под влиянием никеля у устойчивых к нему видов-гипераккумуляторов *Alyssum lesbiacum* и *A. murale* происходило значительное увеличение содержания гистидина в побеге, которое сопровождалось повышением в нем концентрации металла (Krämer et al., 1996). Доказано, что связывание никеля с гистидином является причиной его более интенсивной загрузки в ксилему, в результате чего  $Ni^{2+}$  в значительных количествах поступает в надземные органы, где и накапливается в особых водозапасающих клетках эпидермы (Серегин, 2009). На участие гистидина в дальнем транспорте ионов металлов по ксилеме у видов-гипераккумуляторов указано и в других работах, что, по мнению их авторов, чрезвычайно важно для металлоустойчивости этих видов, поскольку, поступая в клетки листа в больших количествах, тяжелые металлы инактивируются в функционально неактивных органах и тканях, например, в трихомах листьев или в эпидермисе (Krämer et al., 1996; Morel et al., 2009).

В отличие от гипераккумуляторов, у растений-исключателей повышение содержания гистидина обнаружено в корневых экссу-

датах, что способствует снижению поглощения ряда тяжелых металлов (Hall, 2002). Например, в корневых экссудатах растений *A. montanum* в присутствии никеля содержание гистидина повышалось по сравнению с контролем в 36 раз (Krämer et al., 1996). При поступлении тяжелых металлов (в частности, никеля) в клетки растений увеличивается содержание гистидина в цитоплазме, причем установлена прямая корреляционная зависимость между общим содержанием никеля в органах растений и его количеством, связанным с гистидином (табл. 10). Кроме того, выявлено, что у исключателей, таких как *T. arvense*, ограничена способность к загрузке комплекса гистидина с никелем в ксилему, в то время как его поступление в вакуоль клеток корня не ограничено, что обуславливает задержку токсичных ионов в тканях корня и является важным механизмом их детоксикации у этих видов растений (Серегин, 2009).

Таблица 10. Общее содержание никеля и количество металла, связанное с гистидином, в растениях *Thlaspi arvense* в зависимости от продолжительности их экспозиции на растворе с металлом (концентрация никеля в среде роста 10 мМ) (по: Persans et al., 1999)

Экспозиция	Общее содержание Ni <sup>2+</sup> , мкМ/г сухого веса		Содержание Ni <sup>2+</sup> , связанное с гистидином, мкМ/г сухого веса	
	Корень	Побег	Корень	Побег
1 сут	6.2	0.5	2.9	0.4
3 сут	10.6	2.3	3.9	1.0
5 сут	13.0	2.4	4.3	1.2
7 сут	14.8	3.3	6.1	1.3

Помимо гистидина, комплексы с тяжелыми металлами образует и никотинамин. Эта аминокислота, не входящая в состав белков, имеет 6 функциональных групп, что способствует лучшему связыванию ионов металлов (Mari et al., 2006; Haydon, Cobbett, 2007; Rellán-Álvarez et al., 2008). Комплексы необходимых растению тяжелых металлов, в частности, железа, меди и цинка с никотинамином обнаружены в ксилемном соке и доказано его участие в дальнейшем транспорте ионов меди и цинка по ксилеме, а железа – по флоэме (Liao et al., 2000; Takahashi et al., 2003; Rellán-Álvarez et al., 2008). Помимо этого показана его способность связывать тяжелые



металлы, не являющиеся микроэлементами, например, кадмий (Tramczynska et al., 2010). У растений семейства *Poaceae* никотинамин является предшественником фитосидерофоров, которые участвуют в хелатировании ионов тяжелых металлов в ризосфере корней.

Никотинамин образуется из метионина с участием фермента никотинаминсинтазы (Higuchi et al., 1999). У целого ряда видов растений было обнаружено увеличение экспрессии гена этого фермента (*NAS*) под влиянием тяжелых металлов, причем уровень экспрессии корреспондировался с повышением их металлоустойчивости. Так, в присутствии высоких концентраций цинка в корнеобитаемой среде экспрессия гена *NAS* возрастала в корнях как устойчивого к металлу вида *A. halleri*, который является гипераккумулятором, так и у *A. thaliana*, который не обладает повышенной устойчивостью к нему. Однако более высокий уровень наблюдался у гипераккумулятора (Weber et al., 2004). Кроме того, более сильное увеличение уровня экспрессии гена *NAS1* у растений *T. caerulescens* по сравнению с *T. arvense* в присутствии никеля соответствовало и их более высокой устойчивости к этому металлу (Pianelli et al., 2005). В настоящее время предполагается возможность создания генетически модифицированных растений с повышенным уровнем экспрессии гена *NAS*, которые не являются гипераккумуляторами, но имеют большую биомассу, в целях их использования в фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами.

В целом в присутствии тяжелых металлов у растений увеличивается содержание органических кислот и аминокислот, которые связывают ионы металлов с образованием комплексов, снижая их токсическое действие и тем самым способствуя повышению металлоустойчивости. Однако, как доказано многочисленными исследованиями, наиболее важную роль в детоксикации тяжелых металлов в клетке играют **непротейновые тиолы** – глутатион и фитохелатины. Тиолы содержат в своей молекуле сульфгидрильные группы, непосредственно связанные с органическим радикалом (R-SH), которые обеспечивают их молекулам возможность связывать катионы металлов.

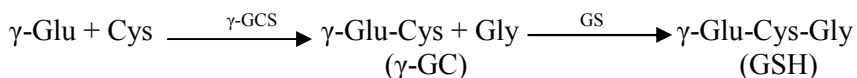
**Глутатион** – низкомолекулярный трипептид с высоким содержанием серы (Seth et al., 2012). Молекулы глутатиона обнаружены в клетках большинства живых организмов, в том числе растений.

Функции глутатиона в клеточном метаболизме многочисленны. Он является одним из наиболее эффективных низкомолекулярных антиоксидантов и защищает клетку от повреждающего действия активных форм кислорода, участвует в поддержании внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала и целостности мембран, в сигналинге, является запасной и транспортной формами серы в клетке, участвует в детоксикации ксенобиотиков, в первую очередь гербицидов, и тяжелых металлов (Zhu et al., 1999; Pietrini et al., 2003; Noctor et al., 2011). У растений глутатион является также предшественником фитохелатинов (Cobbett, Goldsbrough, 2002).

В норме глутатионовый пул на 95 % представлен восстановленной формой (GSH) и лишь 5 % составляет его окисленная форма (GSSG). Баланс ферментативно сдвинут в сторону восстановленной формы за счет активности фермента глутатионредуктазы, локализованного в цитозоле, пластидах, митохондриях и пероксисомах (Noctor et al., 2011). Пул восстановленного глутатиона поддерживается в активном состоянии многими ферментами, при снижении содержания GSH в неблагоприятных условиях среды баланс может сдвигаться в сторону GSSG, в результате чего ферменты в клетке могут переходить в неактивное состояние. Отношение восстановленный/окисленный глутатион является также одним из важнейших параметров, который характеризует уровень окислительного стресса у растений при действии различных стрессоров, в том числе тяжелых металлов.

Синтез глутатиона в растительной клетке происходит в хлоропластах и цитоплазме (Mendoza-Cózatl et al., 2002; Гришко, Сыщиков, 2012). Синтезируясь преимущественно в листьях, он по сосудам флоэмы и ксилемы транспортируется в клетки корня и плодов (семян) (Gómez, Pallás, 2004).

Молекула глутатиона синтезируется из глутамата (Glu), цистеина (Cys) и глицина (Gly). Первая реакция синтеза катализируется ферментом  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтетазой ( $\gamma$ -GCS или  $\gamma$ -ECS) с образованием  $\gamma$ -глутамилцистеина ( $\gamma$ -GC), вторая – ферментом глутатионсинтетазой (GS) с образованием глутатиона (GSH) (Vatamaniuk et al., 1999; Li et al., 2006; Mendoza-Cózatl, Moreno-Sánchez, 2006).



Выявлено, что повышение активности ферментов синтеза глутатиона коррелирует с усилением экспрессии соответствующих генов *γ-GCS* и *GS*, при этом увеличивается и количество GSH в клетках (Xiang, Oliver, 1998; Li et al., 2006). Заметное усиление биосинтеза глутатиона при стрессовых воздействиях возможно только при увеличении уровня экспрессии обоих генов (Mendoza-Cózatl, Moreno-Sánchez, 2006).

Благодаря своим уникальным окислительно-восстановительным и нуклеофильным свойствам глутатион играет очень важную роль в защите растительных клеток от токсического действия тяжелых металлов (Chen et al., 2010). Наличие в его молекуле SH-группы, которая содержит остаток цистеина, дает возможность связывать катионы тяжелых металлов, образуя комплексы, которые затем транспортируются в вакуоли. В настоящее время доказано, что образование такого комплекса и его транспорт через тонопласт является важным механизмом, обеспечивающим детоксикацию тяжелых металлов в клетках растений (Lux et al., 2011; Mendoza-Cózatl et al., 2011). В формировании металл-GSH комплекса участвует фермент глутатион-S-трансфераза (GST), увеличение активности которой обнаружено в присутствии целого ряда тяжелых металлов (Cd, Pb, Cu, Hg, Co и Zn). При этом показано, что повышение уровня экспрессии гена *GST* в клетках растений приводит к увеличению количества связанных ионов металлов и способствует возрастанию металлоустойчивости растений (Semane et al., 2007).

С другой стороны, формирование комплексов GSH с металлами может приводить к заметному снижению пула глутатиона, что сопровождается усилением окислительного стресса. Однако при отсутствии сильных повреждений в клетке синтез GSH относительно быстро запускается, восстанавливая его содержание (Halušková et al., 2009).

К ферментам глутатионового цикла относится и глутатионредуктаза (GR), которая участвует в превращении окисленного глутатиона (GSSG) в восстановленный (GSH) и способствует восстановлению нарушенного баланса между GSH и GSSG (Stevens et al., 1997). Увеличение активности этого фермента, как полагают, создает воз-

можность образования комплексов глутатиона с металлами даже при очень высоком уровне окислительного стресса (Noctor et al., 2002a) и является одним из важных элементов защиты растений от действия тяжелых металлов (Mishra et al., 2006; Yannarelli et al., 2007; Anjum et al., 2012). К примеру, обнаружено, что усиление активности этого фермента у генетически модифицированных растений табака в присутствии кадмия и никеля приводило к увеличению их устойчивости к этим металлам (Gratão et al., 2008), а у риса – к высоким концентрациям свинца (Verma, Dubey, 2003).

Судя по литературным данным, характер изменения содержания GSH в клетках растений под влиянием тяжелых металлов может быть разным (табл. 11). Но, на наш взгляд, это прежде всего связано с различиями в постановке и проведении исследований, в частности, с использованием разных металлов и их концентраций, разными экспозициями и т. д. В качестве примера можно привести данные о влиянии разных концентраций кадмия и времени экспозиции на количество GSH в корнях и листьях растений *Vasopa tonnierii* (рис. 13) (Mishra et al., 2006). Заметное влияние оказывает также вид растений, их возраст, фаза развития и даже орган. Например, у разных генотипов ячменя, независимо от их устойчивости к кадмию, в присутствии металла более сильное снижение содержания GSH наблюдалось в корнях, по сравнению со стеблями и листьями (Wu et al., 2004). У этого же вида растений нами были обнаружены заметные возрастные различия в содержании GSH: у 3-дневных проростков после 4-суточной экспозиции на растворе с кадмием количество GSH в клетках корня резко снижалось, тогда как у 7-дневных, наоборот, увеличивалось (рис. 14). При этом более взрослые растения оказались и более устойчивыми к этому металлу (Казнина и др., 2012).

Очевидно, на начальных этапах воздействия тяжелых металлов уровень глутатиона в клетках снижается, что связано с его расходом на образование комплексов с тяжелыми металлами и синтез фитохелатинов. В дальнейшем же у устойчивых растений содержание глутатиона довольно быстро повышается вследствие активации его синтеза, тогда как у неустойчивых на восстановление его количества требуется больше времени или синтез может вообще не запускаться.

Таблица 11. Характер изменения содержания глутатиона в клетках растений под влиянием тяжелых металлов (по: Anjum et al., 2012)

Металл	Концентрация, мкМ	Экспозиция, сут	Вид растения	Орган	Содержание GSH	Источник
Cd <sup>2+</sup>	5	7	<i>Oryza sativa</i>	Корень	Возрастает	Hassan et al., 2008
	5	10	<i>Hordeum vulgare</i>	Корень, стебель, лист	Возрастает	Wu et al., 2004
	10	4	<i>Triticum aestivum</i>	Проростки	Снижается	Lin et al., 2007
	45	10	<i>Pisum sativum</i>	Корень	Возрастает	Metwally et al., 2005
Cu <sup>2+</sup>	50	7	<i>Oryza sativa</i>	Корень	Возрастает	Guo et al., 2007
	50	7	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Лист	Возрастает	Drażkiewicz et al., 2003
	100	12	<i>Brassica napus</i>	Корень	Снижается	Russo et al., 2008
	100	12	<i>Brassica napus</i>	Лист	Возрастает	Russo et al., 2008
Hg <sup>2+</sup>	10	4	<i>Medicago sativa</i>	Корни	Снижается	Zhou et al., 2009
	30	7	<i>Medicago sativa</i>	Проростки	Возрастает	Ortega-Villasante et al., 2005
Pb <sup>2+</sup>	100	1	<i>Pisum sativum</i>	Корни	Возрастает	Malecka et al., 2009
	100	4	<i>Pisum sativum</i>	Корни	Снижается	Malecka et al., 2009
Zn <sup>2+</sup>	50	3	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Проростки	Возрастает	Cuypers et al., 2001

Спорным на сегодня остается вопрос о том, приводит ли возрастание количества глутатиона и предшествующее этому увеличение экспрессии генов, участвующих в контроле его биосинтеза, напрямую к повышению устойчивости растений к тяжелым металлам. Так, например, у трансформированных растений *A. thaliana* с повышенным уровнем экспрессии генов *AtGS* и *AtGCS* в присутствии кадмия обнаружено усиление синтеза глутатиона, при этом устойчивость растений к металлу повышалась (Xiang et al., 2001). Мутантные растения *Populus nigra* со сверхэкспрессией гена *γ-GCS* оказались более устойчивыми к кадмию по сравнению

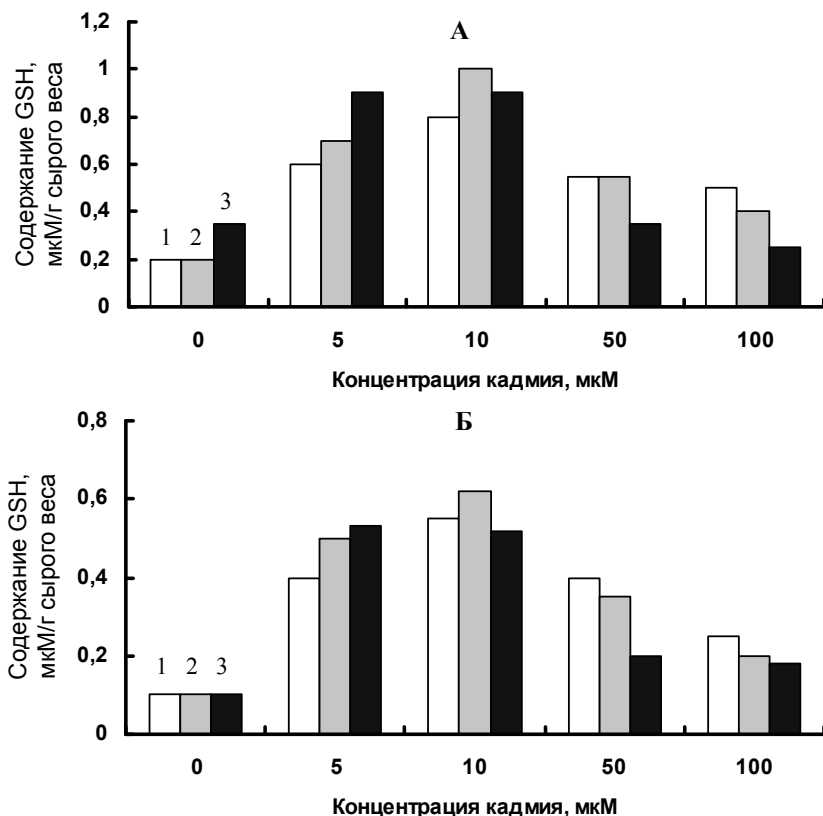


Рис. 13. Содержание GSH в листьях (А) и корнях (Б) растений *Vascora tonnieri* в зависимости от концентрации кадмия в корнеобитаемой среде и экспозиции (по: Mishra et al., 2006):

1 – 2 сут, 2 – 4 сут; 3 – 7 сут

с диким типом (Ivanova et al., 2011). У растений *Phleum pratense* в присутствии кадмия и свинца содержание GSH в клетках корня увеличивалось только при действии кадмия, тогда как у растений *Elytrigia repens* – только в присутствии свинца, что корреспондировалось с устойчивостью изученных видов к этим металлам (Казнина и др., 2014а). Устойчивые к кадмию генотипы гороха посевного (Metwally et al., 2005) и устойчивые к цинку генотипы *Cajanus cajan* (Garg, Kaur, 2013) имели гораздо большее содержание

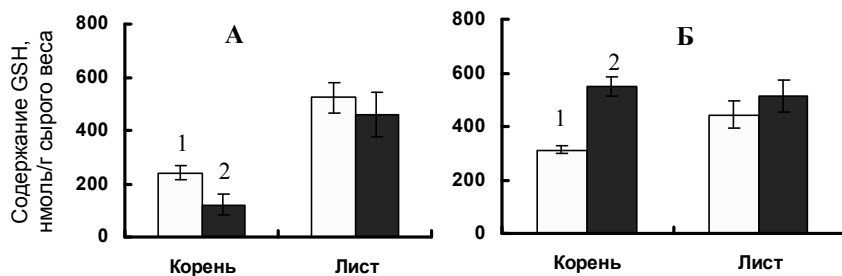


Рис. 14. Содержание GSH в корне и листе растений ячменя разного возраста после 4-суточной экспозиции на растворе с кадмием (100 мкМ):

А – 3-дневные растения + 4 сут экспозиции с  $\text{Cd}^{2+}$ ; Б – 7-дневные растения + 4 сут экспозиции с  $\text{Cd}^{2+}$ . 1 – контроль; 2 – опыт (Казнина и др., 2012)

GSH в клетках корня в присутствии соответствующих тяжелых металлов, чем более чувствительные генотипы. Вместе с тем у мутантных растений *A. thaliana* с повышенным уровнем экспрессии гена  $\gamma\text{-GCS}$  в присутствии ртути хотя и наблюдалось увеличение уровня GSH в клетках, однако устойчивость растений при этом не увеличивалась (Li et al., 2006), а в некоторых случаях – уменьшалась (Xiang et al., 2001). Высокий уровень экспрессии гена  $\gamma\text{-GCS}$  у растений томатов также не приводил к возрастанию их устойчивости к кадмию (Goldsbrough, 1998). А в экспериментах Ли с соавт. (Li et al., 2004) повышенная экспрессия гена  $\gamma\text{-GCS}$  у трансгенных линий арабидопсиса корреспондировалась даже со сверхчувствительностью к кадмию, несмотря на высокое содержание в клетках GSH. Полагают, что такие различия в результатах могут быть связаны как с биологическими особенностями видов, различными концентрациями тяжелых металлов и продолжительностью экспозиции, используемыми в опытах, так и с разными объектами, выбранными для трансформации растений.

Необходимо также подчеркнуть, что в целом ряде исследований обнаружена прямая зависимость между содержанием глутатиона в клетках и количеством токсичных ионов в органах растений (Сыщиков, 2002; Maier et al., 2003; Tausz et al., 2004; Ogawa et al., 2011 и др.). На основании этого предлагается даже использовать такой показатель, как количество GSH, в качестве индикатора степени токсичности разных концентраций тяжелых металлов для

растений (Garg, Kaur, 2013). Однако в работах других авторов такая зависимость не выявлена. Например, у генотипов гороха с высоким содержанием GSH в клетках корня при действии кадмия концентрация металла в корне оказалась гораздо ниже, чем у генотипов с низким его содержанием (Metwally et al., 2005). У растений ячменя, находившихся на более ранних фазах развития, содержание кадмия в корнях было гораздо меньше, чем у растений, находящихся на более поздних фазах развития, тогда как уровень GSH в клетках корня последних был почти в 2 раза выше (Казнина и др., 2012).

В целом, несмотря на существование определенных различий в результатах исследований, можно уверенно говорить о том, что глутатион и ферменты глутатионового цикла играют значительную роль в механизмах детоксикации тяжелых металлов в клетке растений, обеспечивая связывание токсичных ионов. Важная роль глутатиона определяется также его участием в синтезе фитохелатинов.

**Фитохелатины (ФХ)** – семейство низкомолекулярных пептидов, состоящих из линейных цепей остатков глутаминовой кислоты и цистеина и способных благодаря наличию SH-групп связывать тяжелые металлы (Grill et al., 1985; Reddy, Prasad, 1992; Rauser, 1995; Souza, Rauser, 2003).

Впервые ФХ были идентифицированы в делящихся клетках дрожжей *Schizosaccharomyces poble* в присутствии кадмия и были названы кадистинами (Murasugi et al., 1981). У высших растений они были обнаружены в 1980 г. при изучении устойчивых к меди растений *Agrostis* (Rauser, Curvetto, 1980) и устойчивых к кадмию растений бобов (Weigel, Jäger, 1980). Авторы провели аналогию между известными к тому времени белками, связывающими тяжелые металлы в клетках животных, – металлотионеинами – и назвали открытые пептиды III классом металлотионеинов. Однако выявить их у животных не удалось (Cobbett, 1999). В настоящее время эти тиолы более известны как ФХ. Многочисленными экспериментами доказана их важная роль в связывании ионов тяжелых металлов в цитоплазме (Cobbett, 2000; Серегин, 2001; Nakazawa et al., 2002; Clemens et al., 2003 и др.). При этом считается, что все высшие растения способны к синтезу ФХ.



ФХ не являются генными продуктами и синтезируются из глутатиона (Reese, Wagner, 1987; Grill et al., 1989; Rauser, 1999; Nakazawa et al., 2002; Heiss et al., 2003). Их основная формула  $[\gamma\text{-Глу-Цис}]_n\text{-Гли}$ , где  $n = 2\text{--}11$  (Grill et al., 1985; Steffens, 1990). Вместе с тем у молекулы имеются различные структурные вариации, которые позволяют отнести ФХ к разным семействам (табл. 12). Например, С-терминальный глицин может быть заменен на  $\beta$ -аланин (гомофитохелатины), серин (оксиметилфитохелатины), глутамин или терминальная аминокислота может вообще отсутствовать. ФХ с С-терминальными  $\beta$ -Ала, Глу и Сер относят к изофитохелатаинам (Rauser, 1995). Возможно, что отмеченные изменения характерны для отдельных семейств высших растений. Например, оксиметилфитохелатины обнаружены у некоторых злаков (Klapheck et al., 1994), гомофитохелатины – у бобовых (Grill et al., 1989). ФХ, имеющие на С-терминальном конце молекулы глутамин, выявлены только в корнях кукурузы (Rauser, Meuwly, 1995), а не содержащие аминокислоту – выделены из корней и побегов пшеницы и ржи (Wójcik, Tukiendorf, 1999), а также из корней *Rauvolfia serpentina* (Grill et al., 1985).

Таблица 12. Семейства  $[\gamma\text{-Глу-Цис}]$ -пептидов, участвующих в детоксикации тяжелых металлов в клетках высших растений (по: Rauser, 1995; Buchanan et al., 2000; Inouhe, 2005)

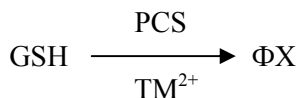
Тип фитохелатинов	Формула	Предшественник	Растительные объекты
Фитохелатины	$[\gamma\text{-Глу-Цис}]_n\text{-Гли}$	Глутатион	Все высшие растения, водоросли
Гомофитохелатины	$[\gamma\text{-Глу-Цис}]_n\text{-Ала}$	Гомоглутатион	Растения из семейства Бобовых
Оксиметилфитохелатины	$[\gamma\text{-Глу-Цис}]_n\text{-Сер}$	Гидрооксиметилглутатион	Растения из семейства Злаковых
Фитохелатины с отсутствием глицина	$[\gamma\text{-Глу-Цис}]_n$	Неизвестен	Пшеница, рожь, кукуруза
Изофитохелатины с глутамином	$[\gamma\text{-Глу-Цис}]_n\text{-Глу}$	Глутамилцистеин-глутамат	Кукуруза

Синтез ФХ индуцируется ионами различных тяжелых металлов, что свидетельствует о неспецифичности этого механизма детоксикации. В частности, индукторами их образования могут

выступать  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и др. (Schat et al., 2002; Stolt et al., 2003). Наиболее эффективны в этом плане  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Hg}^{2+}$  (Souza, Rauser, 2003; Wójcik, Tukiendorf, 2005). Имеются данные о том, что ионы свинца хотя и активируют синтез ФХ, но комплексов с ними не образуют (Leopold et al., 1999). Не индуцируют образования ФХ такие металлы, как Cr, Mo, Ni и V (Grill et al., 1987; Schat et al., 2002).

Информация о синтезе ФХ из глутатиона впервые была опубликована в работах двух групп исследователей, изучающих разные объекты: клетки дрожжей (*S. pombe*) (Kondo et al., 1983, 1984) и культуру клеток *R. serpentina* (Grill et al., 1985). В частности, Грилл с соавт. (Grill et al., 1985) обнаружили, что после добавления кадмия в среду выращивания в клетках растений происходит быстрое уменьшение концентрации глутатиона, при этом синтез ФХ осуществляется довольно быстро, без какого-либо лаг-периода. Позднее в опытах с культурой клеток моркови было показано, что первичные продукты синтеза ФХ  $[\gamma\text{-Глу-Цис}]_2\text{-Гли}$  выявляются менее чем за 30 мин после добавления в среду ионов кадмия (Sanità di Torri et al., 1998). Эти эксперименты говорят о том, что ферменты, ответственные за синтез ФХ, уже присутствуют в клетке до начала стрессового воздействия (Сыщиков, 2007).

В 1989 г. было установлено (Grill et al., 1989), что образование ФХ происходит путем удлинения пептидной цепи глутатиона с участием фермента  $\gamma$ -глутамилцистеинил-дипептидилтранспептидазы или фитохелатинсинтазы (PCS):



PCS – конститутивный фермент, молекула которого является димером и состоит из двух субъединиц (Vatamaniuk et al., 2000; Maier et al., 2003). Ранее полагали, что активация молекулы фермента происходит вследствие взаимодействия иона металла с остатками цистеина и гистидина в молекуле фермента (Ha et al., 1999). При этом наиболее сильными активаторами у всех видов растений являются кадмий и ртуть, а далее по способности к акти-

вации фермента металлы могут располагаться в зависимости от вида растений по-разному (табл. 13). Однако более поздние исследования показывают, что решение вопроса о механизме активации синтеза PCS не столь однозначно. В обзоре Клеменса (Clemens, 2006a) представлены два возможных варианта активации: 1) основным активатором синтеза фермента является не сам ион металла, а его комплекс с GSH или с фитохелатинами (Vatamaniuk et al., 2004); 2) субстратом для активации служит комплекс металла с GSH, а ион металла активирует синтез фермента, являясь частью этого субстрата (Cobbett, Goldsbrough, 2002; Nies, 2003).

Таблица 13. Способность ионов тяжелых металлов к активации фитохелатинсинтазы у разных видов растений (по: Серегин, 2001; Shaw et al., 2006)

Вид растения	Ионы тяжелых металлов	Источник
<i>Lycopersicon esculentum</i>	$\text{Cd}^{2+} > \text{Ag}^+ > \text{Cu}^{2+} > \text{Au}^+ > \text{Zn}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Hg}^{2+} = \text{Pb}^{2+}$	Chen et al., 1997
<i>Rauvolfia serpentina</i>	$\text{Hg}^{2+} > \text{Cd}^{2+} = \text{Fe}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Au}^+ > \text{Pb}^{2+} = \text{Zn}^{2+}$	Grill et al., 1987
<i>Rubia tinctorum</i> <i>Silene cucubalus</i>	$\text{Hg}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ $\text{Cd}^{2+} > \text{Ag}^+ > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Au}^+$	Maitani et al., 1996 Grill et al., 1989

В работе Коббетта (Cobbett, 1999) представлена гипотетическая модель функционирования PCS в присутствии кадмия (рис. 15). С-терминальный домен молекулы действует как локальный сенсор ионов металла. Остатки цистеина связывают ионы кадмия, перенося их на N-терминальный домен, который обладает каталитической активностью. Активация N-терминального домена катализирует реакцию взаимодействия части молекулы GSH (а именно,  $\gamma$ -Глу-Цис) с другой молекулой GSH или уже синтезированной молекулой  $\text{ФХ}_n$  с образованием  $\text{ФХ}_{n+1}$ .

Известно, что синтез ФХ регулируется на уровне экспрессии генов, кодирующих ферменты синтеза глутатиона, а также генов, кодирующих PCS. Первоначально гены PCS были идентифицированы в 1995 г. у растений арабидопсиса (Howden et al., 1995), когда было обнаружено, что мутантные растения *A. thaliana* с отсутствием гена *AtPCS* (*cad 1*), выращенные на питательной среде

с кадмием, имеют высокий уровень GSH и низкий – ФХ (по сравнению с диким типом) и при этом характеризуются повышенной чувствительностью к металлу. Впервые же эти гены были выделены в конце прошлого века независимо тремя разными группами ученых (Clemens et al., 1999; Ha et al., 1999; Vatamaniuk et al., 1999), которые доказали, что увеличение уровня экспрессии генов *AtPCS1* и *TaPCS1* у растений *A. thaliana* и пшеницы коррелировало с активным синтезом фитохелатинов в клетках *S. pombe*. В настоящее время ген *PCS1* выявлен у многих видов высших растений.

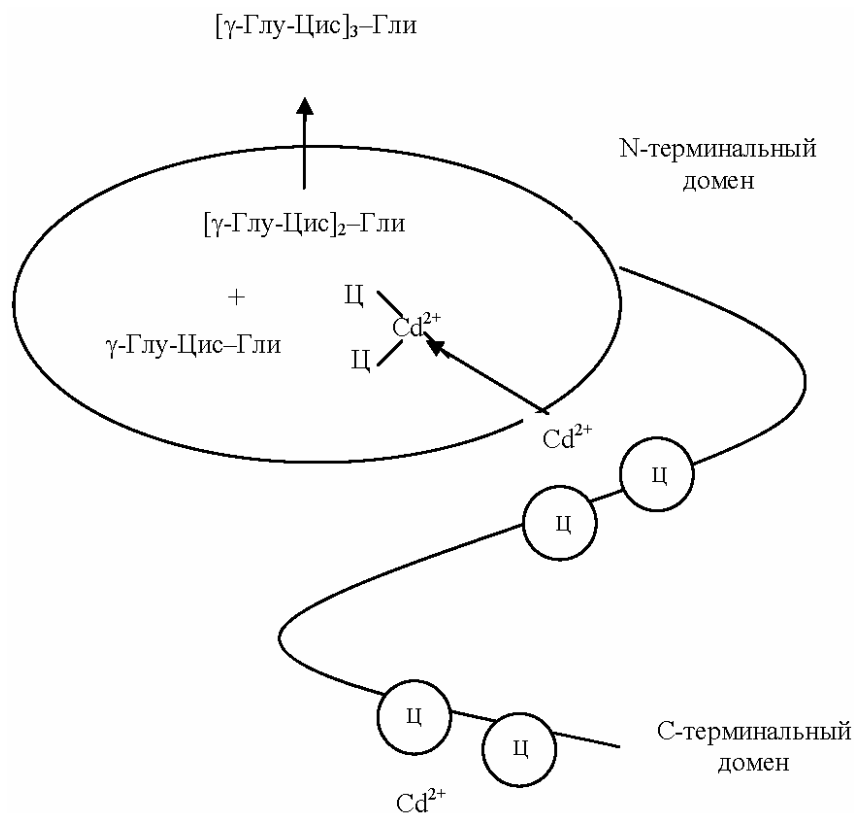


Рис. 15. Гипотетическая модель функционирования фитохелатинсинтазы. Ц – остатки цистеина, связывающие ионы кадмия (по: Cobbett, 1999)

Большой интерес представляют результаты исследований, в которых в геноме *A. thaliana* (*AtPCS2*) был обнаружен второй ген PCS, не являющийся результатом дубликации гена *AtPCS1*. Предположительно он так же, как и *AtPCS1*, экспрессируется во всех клетках и кодирует PCS (Cazale, Clemens, 2001). Но уровень его экспрессии в большинстве тканей гораздо ниже, чем *AtPCS1* (Cobbett, Goldsbrough, 2002). Аналогичные данные получены и на растениях риса, однако необходимость функционирования двух генов у растений в настоящее время не доказана (Clemens, 2006a).

На сегодняшний день установлено, что в присутствии целого ряда тяжелых металлов уровень экспрессии генов *PCS1* и *PCS2* возрастает как в корнях, так и в листьях растений, что приводит к увеличению содержания в клетках ФХ. Вместе с тем далеко не всегда повышение уровня экспрессии генов и увеличение количества этих тиолов приводит к возрастанию металлоустойчивости растений (Pomponi et al., 2006). В некоторых случаях наблюдается даже обратный эффект – повышение чувствительности растений к металлам (Lee et al., 2003b). Что касается конкретного механизма участия ФХ в устойчивости растений к тяжелым металлам, то доказано, что их основная роль заключается в связывании токсичных ионов в клетке, образовании с ними комплексов по типу хелатов и дальнейшем их транспорте в вакуоль. В 1991 г. немецкими учеными (Strasdeit et al., 1991) была предложена структурная модель комплекса кадмия с ФХ, выделенного из культуры клеток *R. serpentina* (рис. 16), из которой следует, что атом кадмия находится в непосредственном окружении четырех атомов серы, принадлежащих цистеиновым остаткам (по: Сыщиков, 2007).

Последующие исследования показали, что благодаря наличию цис-тиоловых групп ФХ в цитоплазме клеток образуют с ионами тяжелых металлов (в частности, с кадмием) низкомолекулярные комплексы (LMW), которые затем транспортируются в вакуоль, где при взаимодействии с сульфид-ионом формируются высокомолекулярные комплексы (HMW), обеспечивающие максимальную детоксикацию металла (Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999; Clemens, Simm, 2003) (рис. 17). При относительно невысоких концентрациях кадмия в клетке образуются только LMW-комплексы, при увеличении концентрации металла в корнеобитаемой среде количество

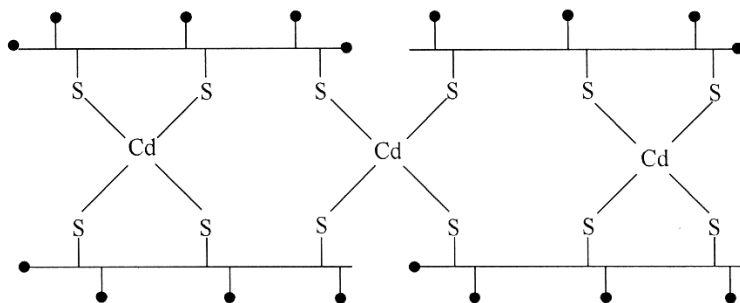


Рис. 16. Структурная модель комплекса  $\text{Cd}_3(\text{PhX}_3)_4$ , выделенного из культуры клеток *Rauvolfia serpentina*. • – карбоксильные группы (по: Strasdeit et al., 1991)

ионов, связанных LMW- и HMW-комплексами, практически равно, а при высоких концентрациях металла в его детоксикации участвуют в основном HMW-комплексы (рис. 18).

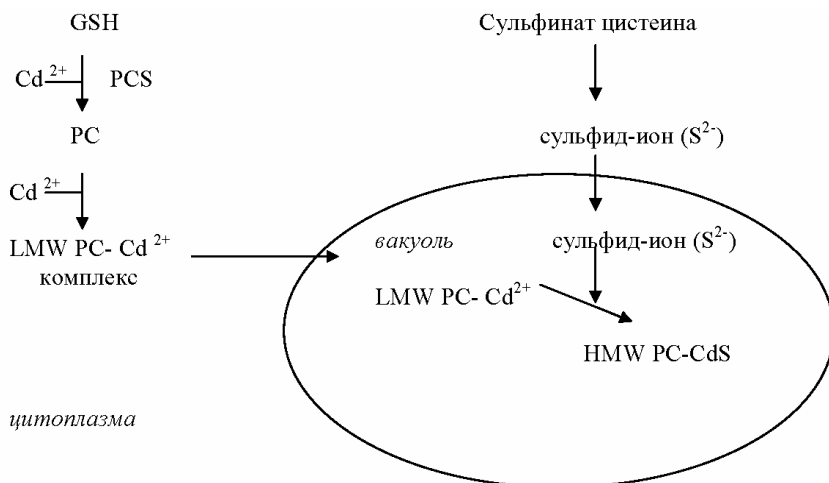


Рис. 17. Схема процесса детоксикации кадмия фитохелатинами в клетке растений:

GSH – восстановленный глутатион; PC – фитохелатины; PCS – фитохелатинсинтаза; LMW PC- $\text{Cd}^{2+}$  и HMW PC-CdS – низкомолекулярные и высокомолекулярные комплексы фитохелатинов с ионами кадмия (по: Cobbett, Goldsbrough, 2002)

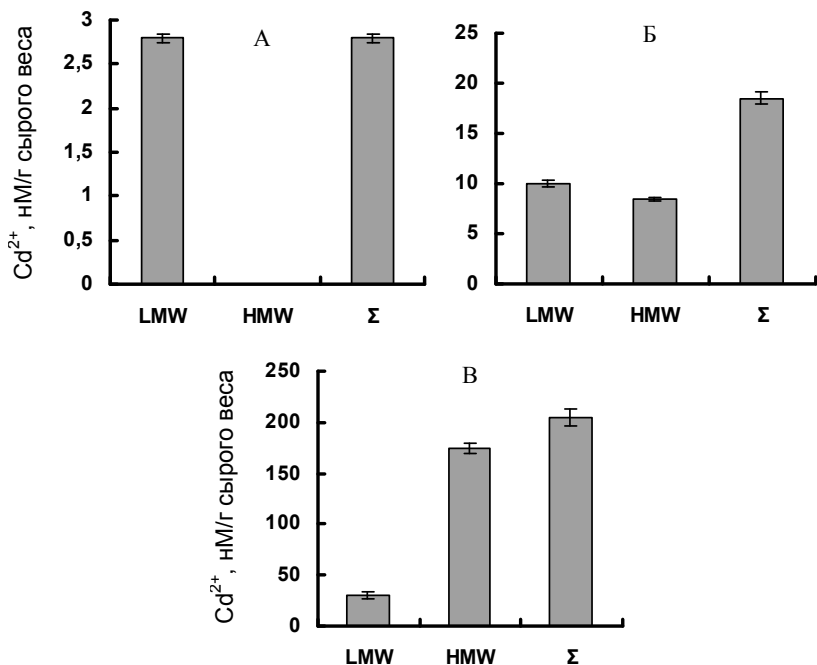


Рис. 18. Количество  $\text{Cd}^{2+}$  в низкомолекулярных (LMW) и высокомолекулярных (HMW) комплексах и его общее содержание ( $\Sigma$ ) в корнях растений риса, выращиваемых в течение 10 сут при разных концентрациях металла в растворе (по: Dendena, 2011):

А – 0.01 мкМ; Б – 0.1 мкМ; В – 1 мкМ

Обнаружено также, что увеличение числа тиоловых групп в молекуле увеличивает ее связывающую способность, т. е. число ионов металлов, которые могут быть связаны одной молекулой (Chekmeneva et al., 2011). Кроме того, с увеличением длины цепочки молекулы возрастает и стабильность комплекса  $\text{Me-ФХ}_n$ . Происходит ли затем распад комплексов и возможно ли вторичное использование ФХ, поступивших в вакуоль, пока неясно. Тем не менее есть предположение, что после того как ионы металлов, например кадмия, освобождаются из комплекса с ФХ в вакуолях клеток, сами тиолы подвергаются гидролизу или могут возвращаться обратно в цитоплазму (Sanità di Toppi, Gabbrielli, 1999).

Неоднозначны также результаты исследований, направленных на изучение зависимости между количеством ФХ и их комплексов и уровнем металлоустойчивости растений. В целом ряде исследований показано, что растения (виды, экотипы, генотипы, клеточные линии) с высоким уровнем синтеза ФХ в клетках обладают гораздо большей устойчивостью к тяжелым металлам, чем с низким уровнем этих тиолов (Cobbett, 2000; Clemens, 2006a; Wawrzyński et al., 2006). В то же время имеются работы, в которых подобная зависимость не выявлена (Schat, Kalff, 1992; Ebbs et al., 2002; Hassan, Aarts, 2011). По всей видимости, ФХ синтезируются как у устойчивых, так и у чувствительных к тяжелым металлам растений (видов, экотипов, генотипов, клеточных линий), а различия между ними наблюдаются прежде всего в скорости их синтеза и образования комплексов  $Me-ФХ_n$  (Delhaize et al., 1989; De Knecht et al., 1994).

В целом анализ литературы позволяет сделать вывод о том, что синтез ФХ в растениях в ответ на действие тяжелых металлов является одним из наиболее важных механизмов их детоксикации в клетках. У растений-исключателей основное участие ФХ в металлоустойчивости, по-видимому, заключается в преимущественном связывании токсичных ионов в клетках корня, что предотвращает их перемещение в надземные органы. Вместе с тем высокое содержание ФХ не является строго обязательным и необходимым условием достижения высокого уровня устойчивости растений к тяжелым металлам. Не исключено, что в зависимости от видовой принадлежности и конкретной ситуации, в которой находятся растения, основную роль в их металлоустойчивости могут брать на себя разные механизмы, что, очевидно, и обеспечивает растениям широкие адаптивные возможности, позволяющие им произрастать на загрязненных теми или иными тяжелыми металлами территориях.

**Металлотионеины (MT)** представляют собой низкомолекулярные белки (8–10 кД). В их составе около 30 % приходится на серосодержащую аминокислоту цистеин, сульфгидрильные группы которой способны связывать ионы тяжелых металлов (Robinson et al., 1993; Gallego et al., 2012). MT у растений – это цитозольные белки (Gallego et al., 2012). Они могут находиться в свободном виде или быть связанными с мембранами органелл (Zhigang et al., 2006).



Впервые МТ, как связывающие кадмий белки, обнаружены в 1957 г. у животных, в почках лошади (Margoshes, Vallee, 1957). В дальнейшем они были выявлены у многих организмов, включая бактерии, грибы и эукариоты (животные и растения) (Robinson et al., 1993). Активное изучение МТ у растений начали проводить в 80-х годах прошлого века после их выделения из растений пшеницы, выращенных в присутствии цинка (Lane et al., 1987). Поиск аналогии между металлосвязывающими белками растений и животных выявил у них заметные различия в расположении остатков цистеина. Вследствие этого все МТ были разделены на два класса. МТ I класса идентифицированы в основном в клетках животных, а МТ II класса – в клетках растений, некоторых грибов, цианобактерий и дрожжей (Reddy, Prasad, 1992; Robinson et al., 1993; Rauser, 1999).

Доказано, что МТ являются генными продуктами и образуются в ответ на действие тяжелых металлов (Robinson et al., 1993; Cobbett, Goldsbrough, 2002). По сравнению с GSH или ФХ синтез МТ идет относительно медленно (Yang, Chu, 2011). Пространственная структура молекулы МТ (рис. 19) имеет гантелеобразную форму и состоит из двух доменов ( $\alpha$  и  $\beta$ ), которые различаются по своей функциональной роли. Предполагают, что N-терминальный участок  $\beta$  домена участвует в гомеостазе необходимых растению металлов, например, цинка (рис. 20), тогда как С-терминальный участок  $\alpha$  домена связывает их избыточное количество и/или ионы токсичных металлов (Willner et al., 1987; Cherian et al., 1994). Область связывания двух доменов обеспечивает стабильность молекулы МТ (Domenech et al., 2007).

На сегодняшний день известны 4 типа МТ (МТ 1, МТ 2, МТ 3 и МТ 4), которые различаются числом и расположением цистеиновых остатков (Cobbett, Goldsbrough, 2002). При этом обнаружены семь изоформ, кодируемых разными генами, имеющими различную локализацию. В частности, у *A. thaliana* гены *MT 1a* и *MT 1c* идентифицированы в хромосоме 1; гены *MT 2a* и *MT 3* – в хромосоме 3; *MT 4a* и *MT 4b* – в хромосоме 2, а *MT 2b* – в хромосоме 5 (Guo et al., 2008; Blindauer, Leszczyszyn, 2010). Как оказалось, такое же расположение они имеют и в геноме риса (Hsieh et al., 1995).

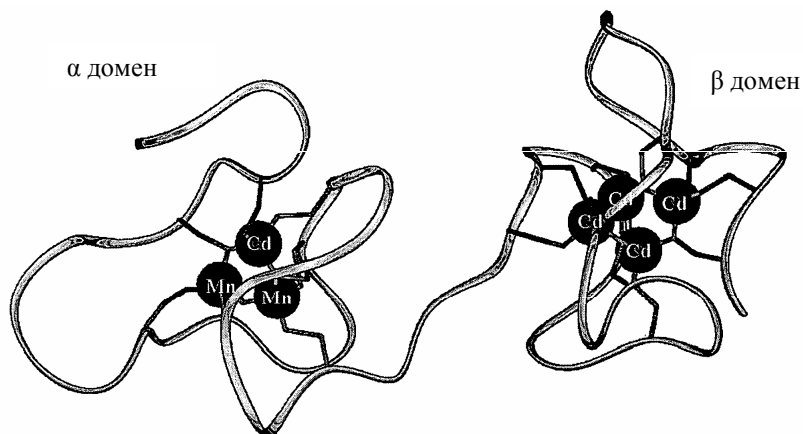


Рис. 19. 3D-структура белка MT 3 из клеток мезофилла листа пшеницы после экспозиции растений на субстрате с кадмием (по: Blindauer, Leszczyszyn, 2010)

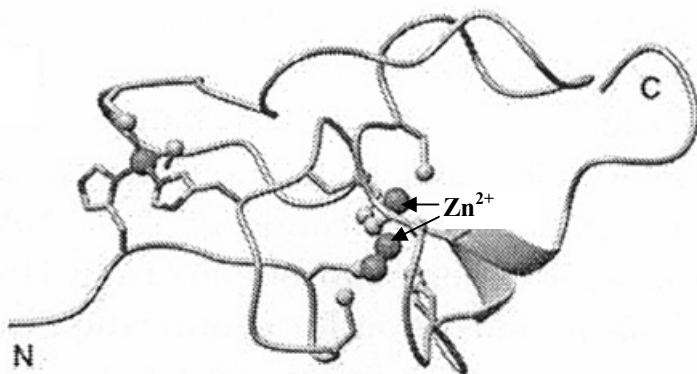


Рис. 20. Структура β домена молекулы MT 2 из клеток мезофилла листа пшеницы после экспозиции растений на субстрате с цинком (по: Blindauer, Leszczyszyn, 2010)

Помимо этого выявлено, что экспрессия генов разных типов MT носит органо- и тканеспецифичный характер. Так, экспрессия гена MT 1-го типа в большей степени проявляется в корнях, чем в стеблях и листьях (Hudspeth et al., 1996), а 2-го типа – наоборот, в листьях (Zhou, Goldsbrough, 1994). MT 3-го типа идентифици-

рованы в основном в зрелых плодах (Clendennen, May, 1997) и в листьях некоторых видов растений (Guo et al., 2003), тогда как 4-го типа – только в развивающихся семенах (Lane et al., 1987; Chyan et al., 2005). Показательный пример различной локализации изоформ в тканях представлен в работах, выполненных на растениях *A. thaliana*. Так, наибольшее содержание транскриптов генов *MT 2a* и *MT 3* в присутствии повышенных концентраций меди в среде роста зафиксировано в трихомах, клетках мезофилла листа и в клетках кончика корня, а транскриптов генов *MT 1a* и *MT 2b* – во флоэме листьев и корня (Guo et al., 2003). Гены, кодирующие все четыре типа МТ, обнаружены пока только у *A. thaliana*, риса и сахарного тростника (Cobbett, Goldsbrough, 2002).

Содержание МТ в клетке, как правило, невелико, но оно существенно повышается под влиянием тяжелых металлов (Grill et al., 1985; Zenk, 1996). Например, в присутствии кадмия (1 мМ) содержание МТ увеличивалось в клетках корня ячменя с 12 мкг/г сухой массы у контрольных растений до 360 – у опытных, т. е. в 30 раз (Данилин, 2010). В корнях растений рапса содержание транскриптов гена *MT 1* повышалось уже в самом начале воздействия меди (50 мкМ), через сутки их количество возрастало в 5 раз, а через 10 сут – в 15 раз (Иванова, 2011). В присутствии свинца, цинка, кадмия и меди усиливалась экспрессия генов МТ у растений *Festuca rubra* (Ma et al., 2003).

Необходимо также отметить, что эндогенные МТ трудно изолировать из клеток растений, что может быть обусловлено их низкой стабильностью в присутствии кислорода (Guo et al., 2008; Cobbett, Goldsbrough, 2002). Поэтому доказательства способности этих белков связывать ионы тяжелых металлов в клетках высших растений чаще всего получают методом гетерологической экспрессии с участием *E. coli* или *S. cerevisiae* (Guo et al., 2008).

МТ идентифицированы в клетках как устойчивых к тяжелым металлам видов растений, так и чувствительных (Ma et al., 2003). При этом во многих случаях повышение уровня экспрессии генов МТ и содержания этих белков в органах приводит к увеличению устойчивости растений к тяжелым металлам и, как выяснилось, к некоторым другим стресс-факторам (табл. 14). Обнаружено также,

что в корнях более устойчивого к кадмию вида *Nicotiana rustica* уровень транскриптов гена *MT 2b* в присутствии металла был выражен в большей степени, чем у менее устойчивого вида *N. tabacum* (Bovet et al., 2006). В наших опытах в корнях более устойчивых к кадмию (7-дневных) проростков ячменя после 4-суточной экспозиции на растворе с металлом увеличивался уровень экспрессии генов *HvMT 1a*, тогда как у менее устойчивых проростков (3-дневных) изменений в уровне экспрессии не наблюдалось (Казина и др., 2012).

Таблица 14. Участие генов металлотионеинов в повышении устойчивости растений к стресс-факторам внешней среды (по: Du et al., 2012)

Вид растения	Ген	Стресс-фактор	Источник
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtMT1</i> и <i>AtMT2</i> в клетках дрожжей	Высокие концентрации $Cd^{2+}$ в среде роста	Lee et al., 2004
	<i>AtMT2a</i> и <i>AtMT3</i> в замыкающих клетках <i>Vicia faba</i>	Высокие концентрации $Cd^{2+}$ в среде роста	Lee et al., 2004
	<i>AtMT4a</i>	Высокие концентрации $Cu^{2+}$ и $Zn^{2+}$ в среде роста	Rodríguez et al., 2010
<i>Fagopyrum esculentum</i>	<i>FeMT3</i>	Засуха и окислительный стресс	Samardzic et al., 2010
<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>GhMT3a</i>	Биотическое воздействие	Xue et al., 2009
<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>NtMT 1</i>	Высокие концентрации $Cd^{2+}$ в среде роста	Eapen, D'Souza, 2005
<i>Oryza sativa</i>	<i>OsMT1a</i> и <i>OsMT2b</i>	Засуха	Yang et al., 2009b
<i>Porteresia coarctata</i>	<i>PcMT3</i>	Высокие концентрации $Cd^{2+}$ ; $Cu^{2+}$ и $Zn^{2+}$ в среде роста	Usha et al., 2011
<i>Avicennia marina</i>	<i>AmMT2</i>	Высокие концентрации $Cd^{2+}$ , $Cu^{2+}$ , $Pb^{2+}$ и $Zn^{2+}$ в среде роста	Huang, Wang, 2010
<i>Populus alba</i>	<i>PaMT3</i>	Засуха и окислительный стресс	Berta et al., 2009
<i>Populus trichocarpa</i> × <i>deltoides</i>	<i>PdtMT2a</i> , <i>PdtMT2b</i> и <i>PdtMT3a</i> в клетках дрожжей	Высокие концентрации $Cd^{2+}$ в среде роста	Kohler et al., 2004
<i>Tamarix hispida</i>	<i>ThMT3</i> в клетках дрожжей	Высокие концентрации $Cd^{2+}$ , $Cu^{2+}$ и $Zn^{2+}$ в среде роста	Yang et al., 2011

В то же время увеличение уровня МТ в клетках может приводить к резкому возрастанию концентрации тяжелых металлов в корнях растений. Так, в 1992 г. Эванс с соавт. (Evans et al., 1992) обнаружили, что увеличение экспрессии генов белков МТ из корней гороха в *E. coli* в присутствии меди в среде роста сопровождалось заметным увеличением содержания металла в клетках. В дальнейшем в целом ряде исследований выявлено, что уровень экспрессии генов МТ зависит от концентрации металлов в окружающей среде. В частности, такая зависимость обнаружена у растений *A. thaliana* (Eapen, D'Souza, 2005) и риса (Huang, Wang, 2010). На основании этого авторы предполагают возможность использования уровня экспрессии генов МТ в качестве надежного критерия загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами, каким в настоящее время является данный показатель в клетках водных и наземных беспозвоночных (Dallinger et al., 2004; Navarro et al., 2009).

Однозначно доказано, что все типы МТ могут функционировать как хелаторы тяжелых металлов (Guo et al., 2008). Однако вследствие разной локализации генов МТ в тканях и органах растений, как полагают, возможны и различия в их функциях в растительной клетке (Cobbett, Goldsbrough, 2002). В подтверждение этого обнаружено участие белков МТ 1а и МТ 2b в метаболизме меди и цинка (Lee et al., 2004; Merrifield et al., 2004) и их дальнем транспорте по растению (Guo et al., 2003). МТ из растений риса (OsMT 2b) (Wong et al., 2004), хлопчатника (*Gossypium herbaceum*) (GhMT 3a) (Xue et al., 2009) и *Hevea brasiliensis* (HbMT 2) (Zhu et al., 2010) обладали сильной антиоксидантной активностью. Есть также данные об участии МТ 1-го типа в процессе старения листа у растений *Brassica napus*, *A. thaliana* и риса (Buchanan-Wollaston, 1994; García-Hernández et al., 1998; Hsieh et al., 1995), а МТ 4 – в пыльцевом эмбриогенезе (Reynolds, Crawford, 1996).

В целом можно констатировать, что основная роль МТ в металлоустойчивости растений заключается в связывании ионов тяжелых металлов в растительной клетке. Однако вопрос относительно других их функций требует дополнительных исследований.

### 3.4.2. Изоляция ионов тяжелых металлов в вакуоли

Еще одним важным механизмом, обеспечивающим устойчивость растений-исключателей к тяжелым металлам, является изоляция токсичных ионов в вакуолях клеток корней, что не только нейтрализует их негативное влияние на клеточный метаболизм, но и предотвращает их поступление в надземные органы (Lin, Aarts, 2012). На сегодняшний день доказано, что транспорт катионов тяжелых металлов через вакуолярную мембрану происходит с участием белков-переносчиков, расположенных на тонопласте, а также водородных помп (вакуолярной Н-АТФазы и пирогосфатазы). Полагают, что активность транспортных систем тонопласта играет важную роль в естественном отборе растений, наиболее устойчивых к тяжелым металлам (Verkleij et al., 1998; Chardonnens et al., 1999).

В конце 80-х – начале 90-х годов было высказано предположение, что свободные ионы тяжелых металлов (в частности, кадмия, который изучен в наибольшей степени) и их комплексы с ФХ активно транспортируются из цитоплазмы в вакуоль через тонопласт (Reese, Wagner, 1987; Vogeli-Lange, Wagner, 1990; Salt, Rauser, 1995). При этом полагали, что эти комплексы диссоциируют с образованием свободных ионов кадмия и восстановленных молекул ФХ. Затем ионы кадмия связываются с органическими кислотами и аминокислотами, присутствующими в вакуолярном соке, и таким образом инактивируются (Vogeli-Lange, Wagner, 1990; Reese et al., 1992).

В настоящее время доказано, что ионы тяжелых металлов транспортируются в вакуоль как в свободном виде, так и в связанном с GSH или ФХ. В переносе токсичных ионов через тонопласт принимают участие целый ряд белков-транспортёров. Среди них HMA3, CAX2 и CAX4, MTP1 и MTP3 переносят свободные ионы металлов, а ABCC1, ABCC2 и YCF1 переносят комплексы тяжелых металлов с GSH или ФХ (рис. 21).

Транспортный белок **HMA3** (*heavy metal ATPase*), относящийся к P<sub>1B</sub>-типу АТФаз (т. е. образующих в ходе реакции промежуточный фосфорилированный продукт – аспартилфосфат), осуществляет перенос свободных ионов тяжелых металлов через тонопласт за счет энергии АТФ. Опыты показали, что этот белок участвует

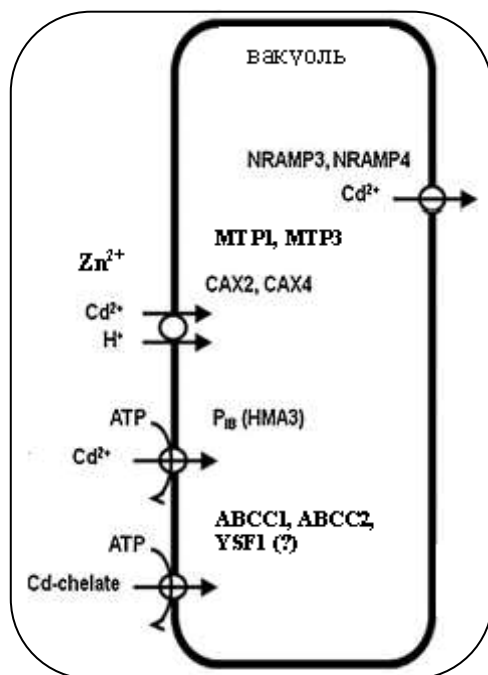


Рис. 21. Белки, участвующие в транспорте ионов тяжелых металлов через тонопласт в вакуоль (по: Lux et al., 2011)

в транспорте целого ряда ионов тяжелых металлов, в частности, цинка, кадмия, никеля. Большая часть исследований, посвященных HMA3-белкам и экспрессии соответствующих им генов, проведено на растениях-гипераккумуляторах. Однако повышение экспрессии генов *HMA3* в присутствии тяжелых металлов обнаружено и у исключателей. Например, уровень содержания транскриптов генов увеличивается в присутствии кадмия в корнях пшеницы (Tan et al., 2013), риса (Satoh-Nagasawa et al., 2012) и ячменя (Mills et al., 2012; Казнина и др., 2014б). Тем не менее единого мнения о возможном участии *HMA3*-генов в повышении устойчивости растений к кадмию в литературе нет. У *A. thaliana* (Van Belleghem et al., 2007) увеличение экспрессии *AtHMA3* приводило к возрастанию концентрации кадмия в растениях, при этом их устойчивость к токсич-

ным ионам повышалась. У этого же вида сверхэкспрессия гена *AtHMA3* корреспондировалась с повышением устойчивости растений не только к  $\text{Cd}^{2+}$ , но и к  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ . Увеличение устойчивости, как полагают, происходит посредством регулирования транспорта этих металлов в вакуоль (Morel et al., 2009). С другой стороны, у растений табака и *N. rustica* (Bovet et al., 2006) возрастание экспрессии *HMA3*-генов в присутствии кадмия не вызывало увеличения их устойчивости к ионам металла. В наших опытах повышение уровня транскриптов гена *HvHMA3*, отмеченное в корнях 3-дневных проростков ячменя, также не приводило к возрастанию устойчивости растений к кадмию (Казнина и др., 2014б).

Транспортные белки **CAX2** и **CAX4** (*cation/proton exchanger*) осуществляют перенос свободных ионов тяжелых металлов через тонопласт за счет энергии протонного градиента в симпорте с  $\text{H}^+$  (Clemens, 2006b; Kabala, Janicka-Russak, 2011). Усиление экспрессии гена *CAX2*, контролирующего синтез этого белка, в присутствии кадмия обнаружено у целого ряда видов растений, но его роль в механизмах металлоустойчивости до сих пор окончательно не установлена. Например, в корнях растений табака экспрессия генов *AtCAX2* и *AtCAX4* увеличивала их устойчивость к кадмию и цинку (рис. 22) (Korenkov et al., 2007). Полученные же нами результаты не выявили такой зависимости: при действии кадмия в корнях и листьях растений ячменя повышалась экспрессия гена *HvCAX2*, но если у 3-дневных (менее устойчивых к металлу) проростков уровень транскриптов гена в корнях возрастал в 8.5 раза (по сравнению с контролем), то у 7-дневных (более устойчивых) проростков – только в 3 раза (рис. 23).

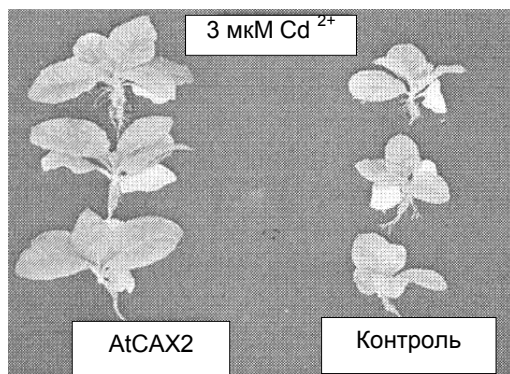
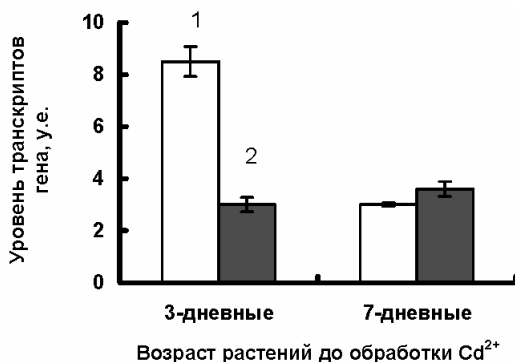


Рис. 22. Влияние кадмия (3 мкМ) на рост растений табака: контроль – дикий тип; *AtCAX2* – трансгенные растения (по: Korenkov et al., 2007)

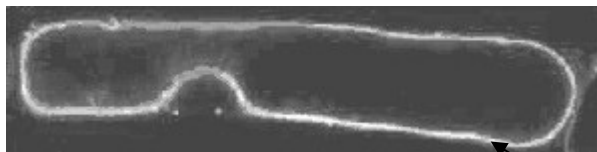


Рис. 23. Влияние кадмия (100 мкМ) на содержание транскриптов гена *HvCAH2* в корнях (1) и листьях (2) проростков ячменя разного возраста (по: Казнина и др., 2013а)



Необходимо также отметить, что увеличение активности CAH-белков, изменяя концентрацию протонов на мембране, может способствовать поступлению через тонопласт низкомолекулярных комплексов ионов тяжелых металлов с ФХ (Yang, Chu, 2011).

Участие белков **MTP1** и **MTP3** (*metal tolerance protein*), относящихся к CDF-семейству (*cation diffusion facilitator*), в транспорте ионов тяжелых металлов через тонопласт впервые было обнаружено у растений *A. thaliana* при воздействии избыточных концентраций цинка в субстрате (van der Zaal et al., 1999). На рис. 24 представлена вакуолярная локализация белка MTP3 в клетках эпидермиса корня *A. thaliana*. В дальнейшем была доказана роль этих белков в изоляции цинка в вакуоли клеток и у других видов растений, а также выявлено, что они функционируют как  $\text{Zn}^{2+}/\text{H}^{+}$  антипортер (Kobae et al., 2004; Krämer, 2005; Arrivault et al., 2006; Van de Mortel et al., 2006). В частности, повышение экспрессии генов *MTP1* и *MTP3* в присутствии цинка наблюдали в корнях и стеблях *Medicago truncatula* (Chen et al., 2009), в корнях, стеблях и семенах ячменя (Podar et al., 2012), в корнях, стеблях и листьях риса (Lan et al., 2012; Yuan et al., 2012). У риса уровень экспрессии гена *OsMTP1* был более высоким в зрелых листьях и стеблях, причем не только при действии  $\text{Zn}^{2+}$ , но и  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  (Lan et al., 2012; Yuan et al., 2012). Авторы также выявили, что экспрессия этого гена, встроенного в геном дрожжей, увеличивала их устойчивость к кадмию и цинку. В настоящее время доказана способность MTP-белков транспортировать через тонопласт ионы и других тяжелых металлов (табл. 15).



МТП3

Рис. 24. Локализация белка МТП3 на вакуолярной мембране клеток эпидермиса корня *Arabidopsis thaliana* (по: Arrivault et al., 2006)

В опытах с клеточной культурой дрожжей был обнаружен еще один транспортер, относящийся к АВС-семейству, – **YCF1** (*yeast cadmium factor1*), способный переносить комплексы тяжелых металлов с GSH в вакуоль. В частности, показано его участие в транспорте комплексов  $\text{GSH-Cd}^{2+}$  и  $\text{GSH-As}^{3+}$  (Szczypka et al., 1994; Li et al., 1997). Выявлено, что сверхэкспрессия гена *ScYCF1* в растениях *A. thaliana* коррелировала с более высокой устойчивостью мутантных растений к кадмию по сравнению с диким типом (Song et al., 2003). Сведений об этом белке у других видов высших растений в литературе мы не обнаружили.

Белки-транспортеры **MRP1/ABCC1** и **MRP2/ABCC2** (*multidrug resistance-associated protein*) относятся к наиболее многочисленному семейству транспортных белков АВС-типа (*ATP-binding-cassette*), которые, как известно, осуществляют трансмембранный

Таблица 15. Участие белков МТП1 и МТП3 в транспорте ионов тяжелых металлов через тонопласт (по: Ricachenevsky et al., 2013)

Белок	Вид растения	Транспортируемый катион	Источник
AtMTP1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	$\text{Zn}^{2+}$	Kobae et al., 2004; Kawachi et al., 2008
HvMTP1	<i>Hordeum vulgare</i>	$\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Co}^{2+}$	Podar et al., 2012
MtMTP1	<i>Medicago truncatula</i>	$\text{Zn}^{2+}$	Chen et al., 2009
NtMTP1	<i>Nicotiana tabacum</i>	$\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Co}^{2+}$	Shingu et al., 2005
OsMTP1	<i>Oryza sativa</i>	$\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Co}^{2+}$ , $\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Fe}^{2+}$	Menguer et al., 2013
PtdMTP1	<i>Populus trichocarpa</i> × <i>Populus deltoides</i>	$\text{Zn}^{2+}$	Blaudez et al., 2003; Montanini et al., 2007
AtMTP3	<i>Arabidopsis thaliana</i>	$\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Co}^{2+}$	Arrivault et al., 2006

перенос низкомолекулярных соединений, в том числе глутатиона и его производных (Klein et al., 1998; Lu et al., 1998). У растений белок MRP1/ABCC1 впервые был идентифицирован у *A. thaliana* (Lu et al., 1997) и было доказано, что он, а также его гомолог MRP1/ABCC2 находятся на тонопласте и играют роль транспортеров ионов тяжелых металлов (Lu et al., 1998; Tommasini et al., 1998). Последующие исследования показали, что оба белка (AtABCC1 и AtABCC2) способны транспортировать в вакуоли комплексы ФХ- $\text{Cd}^{2+}$ , ФХ- $\text{As}^{3+}$  (Song et al., 2010; Yang, Chu, 2011) и ФХ- $\text{Hg}^{2+}$  (Park et al., 2012). Более того, они, по-видимому, выполняют основную роль в транспорте комплексов тяжелых металлов с ФХ (рис. 25). Есть также доказательства участия этих белков в устойчивости растений к  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Hg}^{2+}$  (Kang et al., 2010; Park et al., 2012).

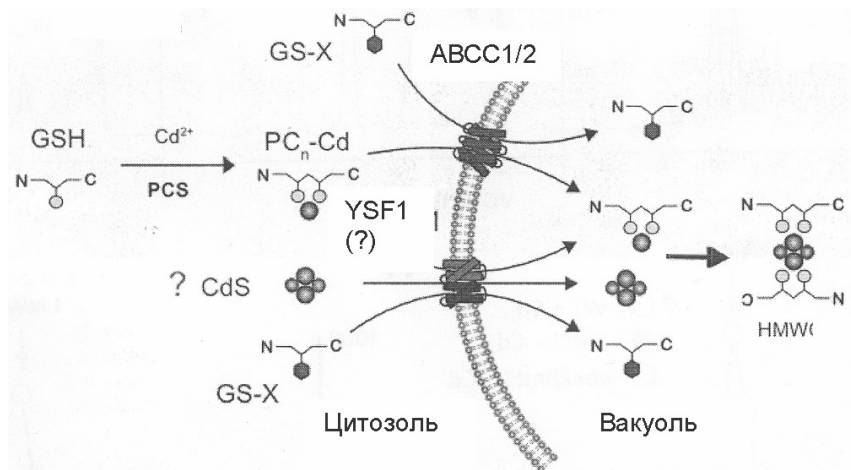


Рис. 25. Белки транспортеры ABC-типа, участвующие в переносе комплексов кадмия с фитохелатинами и глутатионом через тонопласт клетки:

GSH – восстановленный глутатион, PC – фитохелатины; PCS – фитохелатинсинтаза; GS – глутатионсинтаза; HMW – высокомолекулярный комплекс (по: Mendoza-Cózatl et al., 2010)

Имеются немногочисленные данные об участии в транспорте комплексов тяжелых металлов с органическими молекулами через тонопласт белков из подсемейства YSL (*yellow stripe like*), относящихся к семейству OPT (*oligopeptide transporter*) (Yen et al., 2001).

Например, у *A. thaliana* увеличение экспрессии *AtYSL*-гена приводило к повышению концентрации железа в клетках корня, с одной стороны, а с другой – к увеличению уровня никотинамина в вакуолях клеток. Это позволило авторам предположить участие этих белков в переносе комплекса  $\text{Fe}^{2+}$  с никотинамином через тонопласт (Martinoia et al., 2000).

Вакуолярные протонные помпы – вакуолярная  $\text{H}^+$ -АТФаза и пирофосфатаза – являются генераторами электрохимического протонного градиента, который требуется для сопряженного (вторичного) транспорта ионов металлов через тонопласт (Maeshima, 2001). Благодаря их работе поддерживается необходимый уровень pH в цитоплазме клетки, подкисляется вакуолярный сок, что способствует функционированию целого ряда транспортных систем (Алехина, Харитонашвили, 2005; Gruenberg, van der Goot, 2006).

По современным представлениям вакуолярная  $\text{H}^+$ -АТФаза высших растений представляет собой белковый комплекс, состоящий из нескольких субъединиц (рис. 26), кодируемых разными генами (Sze et al., 1992; Dietz et al., 2001). При этом выявлено, что повышение экспрессии генов некоторых из субъединиц в условиях действия стресс-факторов сопровождается увеличением активности фермента (Golldack, Dietz, 2001). В свою очередь, повышение активности вакуолярной  $\text{H}^+$ -АТФазы способствует усилению транспорта ионов, в том числе тяжелых металлов, и нейтральных молекул в вакуоль (Kluge et al., 2003), что может положительно сказываться на металлоустойчивости растений (Dietz et al., 2001).

Впервые наличие протон-зависимого транспорта кадмия в вакуоль было экспериментально доказано в опытах с везикулами тонопласта корней овса (Salt, Wagner, 1993). Авторы показали, что вакуолярная  $\text{H}^+$ -АТФаза может обеспечивать активность белков, функционирующих как  $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортер. Позднее в присутствии кадмия было обнаружено увеличение экспрессии генов некоторых субъединиц вакуолярной  $\text{H}^+$ -АТФазы, в частности, субъединицы В в листьях табака (Berezin et al., 2008) и субъединицы Е в корнях ячменя (Finkemeier et al., 2003), что приводило к повышению активности фермента. При этом показано, что возрастание

стрессовой нагрузки не только увеличивает экспрессию генов отдельных субъединиц вакуолярной  $H^+$ -АТФазы и повышает активность фермента, но и сопровождается ростом устойчивости растений. В наших опытах (рис. 27) также установлено, что под влиянием кадмия резко повышается уровень транскриптов генов *HvVHA E* и *HvVHA c* в корнях более устойчивых к кадмию (7-дневных) проростков ячменя, тогда как у менее устойчивых (3-дневных) проростков несколько увеличивалось количество транскриптов гена *HvVHA E*, изменений же в содержании матриц гена *HvVHA c* не происходило (Казнина и др., 2013).

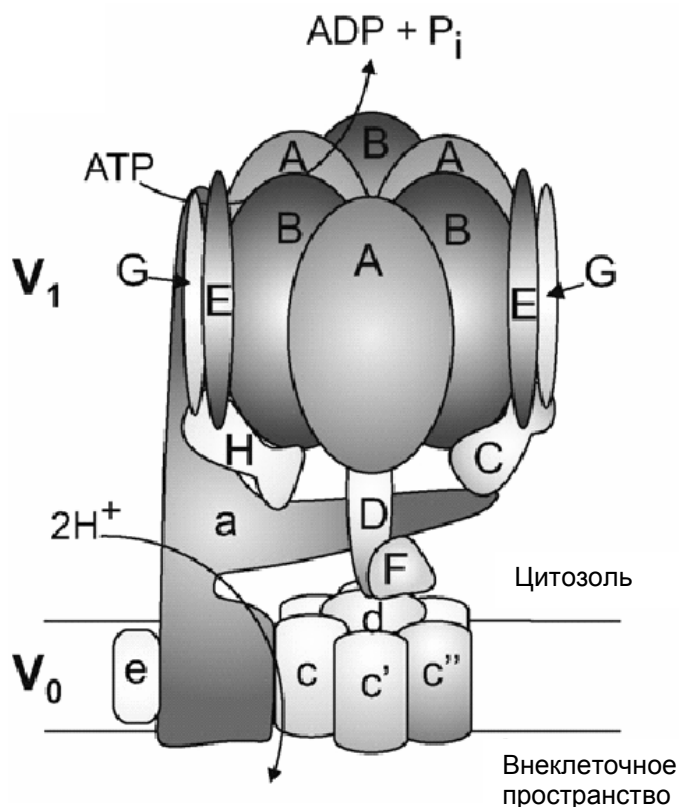


Рис. 26. Гипотетическая модель вакуолярной  $H^+$ -АТФазы (по: Jefferies et al., 2008)

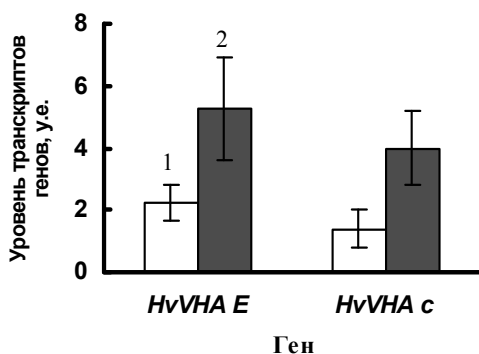


Рис. 27. Уровень транскриптов генов *HvVHA E* и *HvVHA c* в корнях проростков ячменя разного возраста после их 4-суточной экспозиции на растворе с кадмием (100 мкМ):

1 – 3-дневные + 4 сут экспозиции с  $\text{Cd}^{2+}$ ; 2 – 7-дневные + 4 сут экспозиции с  $\text{Cd}^{2+}$ . Уровень экспрессии генов у проростков контрольного варианта принят за единицу (Казнина и др., 2013б)

На примере цинка и никеля показано, что действие тяжелых металлов на транспортную активность вакуолярной  $\text{H}^+$ -АТФазы зависит от их концентрации в корнеобитаемой среде и продолжительности воздействия. И если в присутствии относительно невысоких концентраций металлов активность вакуолярной  $\text{H}^+$ -АТФазы повышается, то более высокие концентрации (выше 100 мкМ) снижают активность фермента, что предположительно связано со снижением способности протонной помпы поддерживать необходимый электрохимический градиент вследствие конформационных изменений структуры фермента (Kabała, Janicka-Russak, 2011). Существует мнение, что более устойчивые к тяжелым металлам виды (экотипы, генотипы) растений имеют более низкую концентрацию металлов в цитоплазме именно в связи с увеличением активности V-АТФазы и, как следствие, усилением транспорта кадмия в вакуоль, по сравнению с менее устойчивыми растениями (Kabała et al., 2010).

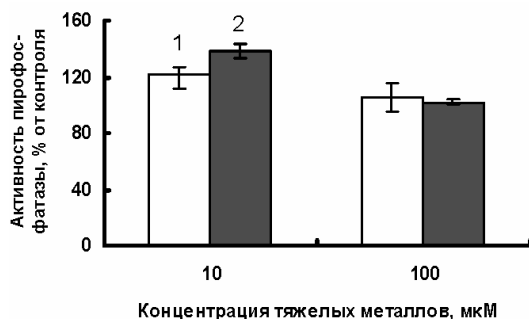
Необходимо также отметить, что уровень экспрессии генов разных субъединиц вакуолярной  $\text{H}^+$ -АТФазы в присутствии тяжелых металлов неодинаков (Berezin et al., 2008; Казнина и др., 2013б). Предполагается, что эти различия могут быть связаны с местоположением субъединиц в белковом комплексе и с выполняемыми ими функциями. В частности, субъединица *c* входит в состав мембранного (интегрального) комплекса молекулы фермента, который отвечает за транспорт протонов через мембрану.

Субъединица *E* принадлежит цитозольной части молекулы фермента и осуществляет совместно с другими субъединицами (от *C* до *H*) поддержание его активности, обеспечение контакта между двумя частями вакуолярной  $H^+$ -АТФазы (Dietz et al., 2001; Gaxiola et al., 2007).

На тонопласте имеется еще одна протонная помпа, альтернативная вакуолярной  $H^+$ -АТФазе, – пирофосфатаза, источником энергии для которой служит пирофосфат (Maeshima, 2001). В отличие от вакуолярной  $H^+$ -АТФазы пирофосфатаза состоит из единственного полипептида (Rea et al., 1992; Maeshima, 2000). У высших растений имеется две ее изоформы:  $K^+$ -зависимая и  $K^+$ -независимая (Belogurov, Lahti, 2002). Доминирующую позицию пирофосфатаза занимает на тонопласте клеток молодых, растущих тканей, а также в зрелых тканях с повышенной кислотностью вакуолярного сока (Gaxiola et al., 2007).

В присутствии тяжелых металлов обнаружено изменение транспортной активности пирофосфатазы. Так, было показано ее увеличение в присутствии цинка и никеля в везикулах тонопласта корней огурца (*Cucumis sativus*) (рис. 28) (Kabała, Janicka-Russak, 2011). При этом возрастала экспрессия гена *CsVPI*, ответственного за синтез этого белка. Показано также, что действие тяжелых металлов на транспортную активность пирофосфатазы в гораздо меньшей степени зависит от концентрации тяжелых металлов в среде роста, чем вакуолярной  $H^+$ -АТФазы. Например, в отмеченном выше исследовании активность фермента при действии цинка в концентрациях 10 и 100 мкМ повышалась примерно в равной мере (Kabała, Janicka-Russak, 2011).

Рис. 28. Влияние цинка (1) и никеля (2) на активность пирофосфатазы на везикулах тонопласта, изолированных из корней огурца (по: Kabała, Janicka-Russak, 2011)



В целом транспортная система тонопласта обеспечивает перемещение ионов тяжелых металлов в вакуоль, способствуя их изоляции в клетке, и таким образом участвует в обеспечении металлоустойчивости растений. Однако функционируют ли все эти белки одновременно или дифференцированно во времени, пока неизвестно. Нет окончательного ответа и на вопрос о непосредственной роли этих белков и соответствующих им генов в повышении устойчивости растений к тяжелым металлам. Необходимо также отметить, что в основном все имеющиеся на сегодняшний день данные, связанные с изучением транспортных белков тонопласта, касаются кадмия и цинка, тогда как транспорт других тяжелых металлов и их комплексов в вакуоль исследован пока слабо.

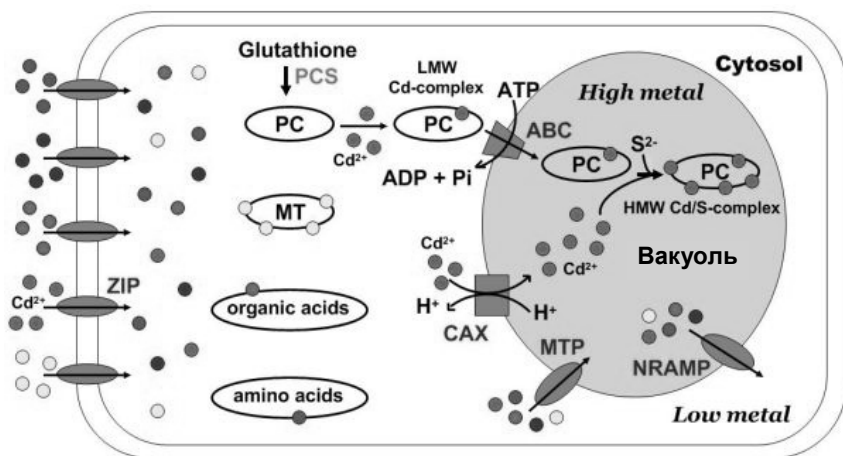


Рис. 29. Схема детоксикации тяжелых металлов в клетках растений: связывание токсичных ионов и их транспорт в вакуоль (по: Yang, Chu, 2011):

PC – фитохелатины; PCS – фитохелатинсинтаза; MT – металлотионеины; LMW Cd-complex и HMW Cd-complex – низкомолекулярный и высокомолекулярный комплексы  $\text{Cd}^{2+}$  с фитохелатинами

Таким образом, при поступлении ионов тяжелых металлов в клетки начинают функционировать механизмы их детоксикации, включающие в себя связывание ионов различными хелаторами (органическими кислотами, аминокислотами, глутатионом и фитохелатинами, металлотионеинами) и транспорт свободных ионов и



их комплексов в вакуоль с участием транспортной системы тонопласта (рис. 29). Активность этих механизмов в клетках корня у растений-исключателей обеспечивает задержку значительной части токсичных ионов в подземных органах, что во многом определяет их металлоустойчивость.

### **3.5. Участие антиоксидантной системы в устойчивости растений к тяжелым металлам**

Одним из наиболее опасных последствий повышения содержания тяжелых металлов в растениях является развитие в клетках окислительного стресса, вызванного образованием избыточного количества активных форм кислорода (АФК), обладающих чрезвычайно высокой реакционной способностью (Hegedus et al., 2001; Qureshi et al., 2007; Sandalio et al., 2009). При этом некоторые тяжелые металлы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях в клетке и могут непосредственно генерировать АФК в реакциях Габера-Вейса и Фентона (Co, Cr, Cu и Fe), тогда как другие (Cd, Ni, Pb, Zn и др.) не принимают участие в этих реакциях и вызывают накопление АФК опосредованно, например, за счет вызываемых ими нарушений в структуре хлоропластов и митохондрий (Sandalio et al., 2001) или инактивации ферментов антиоксидантной защиты (Dietz et al., 1999; Schützendübel, Polle, 2002).

К АФК относят: супероксидный анион-радикал  $O_2^{\cdot-}$ , пероксид водорода  $H_2O_2$ , гидроперекисный радикал  $HO_2^{\cdot}$ , гидроксил-радикал  $HO^{\cdot}$ , синглетный кислород  $^1O_2$  и озон  $O_3$  (рис. 30) (Gallego et al., 1996; Dixit et al., 2001; Van Breusegem et al., 2001; Romero-Puertas et al., 2004; Полесская, 2007). Основными генераторами АФК являются хлоропласты и митохондрии, где идут процессы, в которых окислительно-восстановительные реакции играют ключевую роль, а также пероксисомы, содержащие большое количество ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции (Apel, Hirt, 2004; Mhamdi et al., 2010; Креславский и др., 2012). У высших растений АФК в небольших количествах ( $10^{-8}$ – $10^{-11}$ М) образуются в ходе целого ряда метаболических процессов в клетке, однако в норме они быстро инактивируются благодаря работе антиоксидантной системы (АОС). При действии же небла-

гоприятных факторов внешней среды, в том числе тяжелых металлов, образование АФК значительно усиливается, вызывая повреждение белков и нуклеиновых кислот, окисление липидов (Finkel, Holbrook, 2000; Колупаев, 2007; Djebali et al., 2008; Paradiso et al., 2008). Например, в присутствии кадмия в клетках корня и листа гороха окислительный стресс вызывает заметное увеличение количества поврежденных белков, образованных вследствие их карбонилирования (необратимого окислительного повреждения) активными формами кислорода (Romero-Puertas et al., 2002). Для нуклеиновых кислот наиболее токсичной формой АФК является гидроксил-радикал, повышение содержания которого приводит к нарушению пуриновых и пиримидиновых оснований молекулы ДНК (Halliwell, Gutteridge, 1999). Кроме того, синглетный кислород вызывает нарушения в молекуле одного из пуриновых оснований – гуанина (Wiseman, Halliwell, 1996), выявленные в присутствии мышьяка в клетках корней и листьев *Vicia faba* (Lin et al., 2008).



Рис. 30. Образование активных форм кислорода в растительной клетке (по: Rodriguez, Redman, 2005)

Окислительный стресс является также причиной перекисного окисления липидов (ПОЛ), при котором возникает целый каскад последовательных свободнорадикальных реакций с образованием различных химических соединений (спиртов, альдегидов, кетон), обладающих высокой биологической активностью и токсичностью (Halliwell, 2006). В результате ПОЛ нарушается структура клеточных мембран, снижается их пластичность, изменяется проницаемость (Romero-Puertas et al., 2002; Barconi et al., 2011).

Об интенсивности ПОЛ в клетке можно судить по содержанию соединений, образующихся в результате реакций окисления липидов, которые реагируют с тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенных продуктов (TBARS – thiobarbituric acid reactive substances). Например, повышение уровня TBARS обнаружено в присутствии кадмия в суспензии клеток растений кофейного дерева (Gomes-Junior et al., 2006), в корнях пшеницы (Khan et al., 2007), а при действии свинца – в стеблях риса (Verma, Dubey, 2003). Во многих исследованиях в качестве маркера для определения ПОЛ в органах растений используют малоновый диальдегид (МДА) (Verma, Dubey, 2003; Jin et al., 2008; Hu et al., 2009). Тяжелые металлы в большинстве случаев вызывают увеличение уровня МДА, что свидетельствует о возрастании интенсивности ПОЛ (Dixit et al., 2001; Guo et al., 2004; Nouairi et al., 2009; Amirjani, 2012). Так, при выращивании озимого ячменя на растворах, содержащих тяжелые металлы в концентрациях, вызывающих 30%-е снижение биомассы растений, в клетках листа наблюдалось повышение содержания МДА, которое в значительной степени зависело от типа металла (рис. 31). Помимо этого, на уровень МДА в клетках влияют концентрация тяжелых металлов в среде выращивания и продолжительность их воздействия (Guo et al., 2004; Juknys et al., 2012), обнаружены также ткане- и органоспецифические различия.

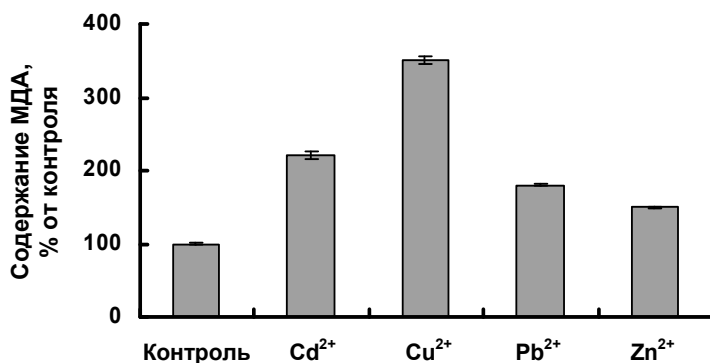


Рис. 31. Содержание МДА в листьях растений ячменя в присутствии тяжелых металлов после 5 дней обработки (75 мкМ Cd<sup>2+</sup>; 250 мкМ Cu<sup>2+</sup>; 410 мкМ Pb<sup>2+</sup>; 800 мкМ Zn<sup>2+</sup>) (по: Juknys et al., 2012)

Например, в присутствии кадмия содержание МДА, а следовательно, и интенсивность ПОЛ возрастали в большей степени в листе растений риса по сравнению с корнем, что, очевидно, связано с наличием в клетках листа хлоропластов, генерирующих при стрессовых воздействиях избыточное количество АФК (рис. 32).

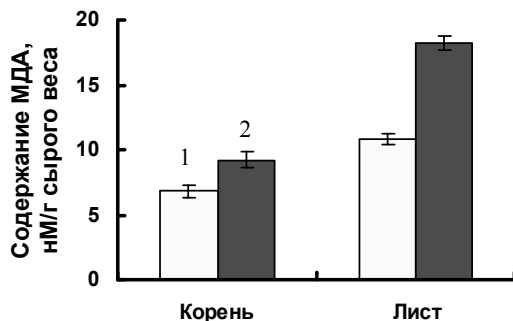


Рис. 32. Содержание МДА в корне и листе растений риса при действии кадмия (50 мкМ) (по: Hu et al., 2009):

1 – контроль, 2 –  $\text{Cd}^{2+}$

Основными причинами возникновения окислительного стресса в клетках растений в присутствии тяжелых металлов, независимо от их окислительно-восстановительной активности, являются: ингибирующее действие их ионов на скорость электронного транспорта на мембранах хлоропластов и митохондрий, изменения в структуре антиоксидантных ферментов в результате связывания токсичных ионов с сульфгидрильными группами белков, а также замена в молекуле необходимых ионов металлов на токсичные ионы, что приводит к снижению их активности (рис. 33). Наконец, в присутствии тяжелых металлов уменьшается содержание некоторых антиоксидантных неферментных соединений, таких как глутатион, вследствие использования его молекул на синтез ФХ. Все это способствует увеличению содержания АФК в клетке растений и развитию окислительного стресса (Сазанова и др., 2012; Hossian et al., 2012).

Однако, несмотря на явно выраженные негативные последствия, вызываемые повышением содержания АФК в клетках, растения обладают довольно высокой устойчивостью к окислительному стрессу. Это обусловлено наличием у них достаточно эффективной системы антиоксидантной защиты (Hall, 2002; Полесская, 2007; Gamalero et al., 2009). Сам термин «антиоксидант» применяют к большому числу веществ разной химической природы, которые

защищают клетку от повреждений, вызванных действием АФК (Salt, 2004). К антиоксидантам относят целый ряд ферментов и неферментативных низкомолекулярных химических соединений, которые образуют единую антиоксидантную систему (АОС) растений.

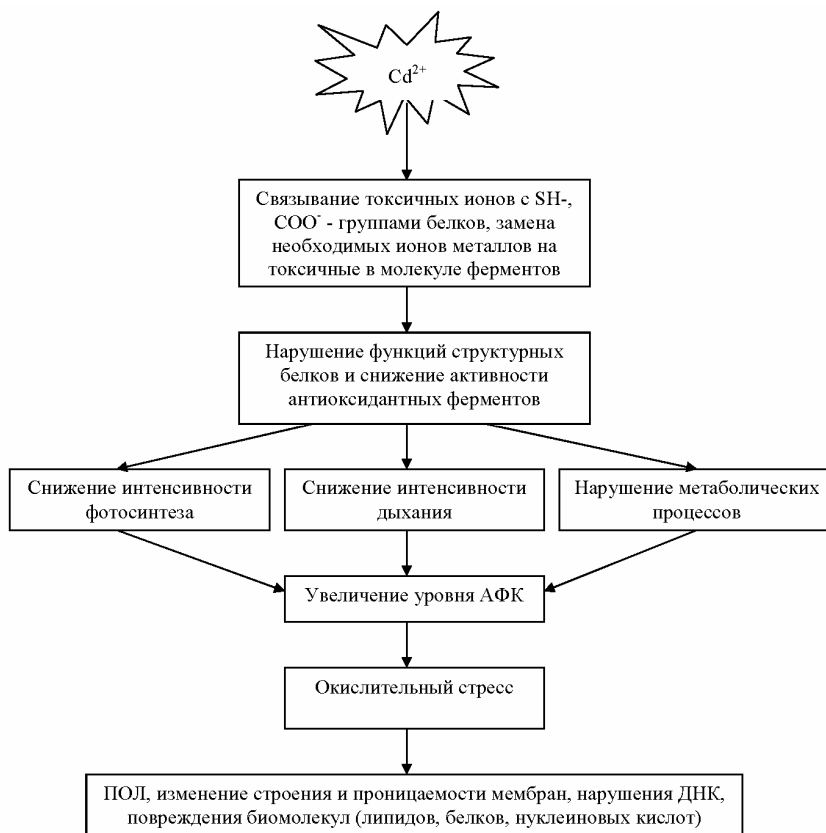


Рис. 33. Схема индукции окислительного стресса у растений тяжелыми металлами (по: Hossian et al., 2012)

Основными антиоксидантными ферментами являются: супероксиддисмутаза, каталаза, гваякол-зависимая пероксидаза, глутатион-S-трансфераза, а также ферменты аскорбат-глутатионового цикла, среди которых аскорбатпероксидаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза (Noctor, Foyer, 1998).

**Супероксиддисмутаза** (СОД; КФ 1.12.1.1) участвует в процессе нейтрализации  $O_2^{\cdot-}$  с образованием  $H_2O_2$ . Считается, что именно СОД обеспечивает «первую линию» защиты клеток от АФК, катализируя реакцию дисмутации супероксид-радикала в различных компартментах клетки (Asada, 1994; Ahsan et al., 2009). В растительных клетках присутствуют три типа СОД, различающихся ионом металла, входящим в их молекулу в качестве кофактора, и локализацией в клетке. В частности, Fe-СОД локализована преимущественно в хлоропластах, Mn-СОД – в митохондриях и пероксисомах, Cu/Zn-СОД – в апопласте, цитозоле, хлоропластах, пероксисомах и глиоксисомах (Полесская, 2007; Gill, Tuteja, 2010). Обнаружено также, что различные формы СОД обладают неодинаковой чувствительностью к тяжелым металлам, например, к кадмию: CuZn-СОД более чувствительная, особенно ее цитозольная изоформа, Mn-СОД – менее чувствительная, тогда как Fe-СОД является наиболее устойчивой изоформой (Palma et al., 1998; Sandalio et al., 2001).

**Каталаза** (КАТ; КФ 1.11.1.6) в основном находится в пероксисомах и митохондриях и с высокой скоростью разлагает перекись водорода до воды и кислорода. Но, поскольку фермент имеет низкое сродство к  $H_2O_2$ , он начинает функционировать только при относительно высоких ее концентрациях в клетке (Гарифзянов и др., 2011).

**Аскорбатпероксидаза** (АПО; КФ 1.11.1.11) является основным ферментом для ликвидации перекиси водорода в клетке, используя при этом в качестве донора электронов аскорбиновую кислоту. Этот фермент присутствует в хлоропластах, митохондриях, цитозоле, пероксисомах и в апопласте, некоторые его изоформы связаны с мембранами. Его активность коррелирует с устойчивостью растений к окислительному стрессу, вызванному действием тяжелых металлов.

**Глутатионпероксидаза** (ГПО; КФ 1.11.1.9) локализована в плазмалемме, цитоплазме и матриксе митохондрий. Фермент восстанавливает перекись за счет окисления глутатиона, а также участвует в утилизации пероксидов жирных кислот, нуклеиновых кислот, белков.

**Гваяколпероксидаза** (ГвПО; КФ 1.11.1.7) локализована в цитозоле, вакуолях, клеточной стенке. Восстанавливает пере-

кись за счет окисления фенольных соединений (Asada, 1994). Фермент участвует в защите клетки от окислительного стресса в тех компартментах (вакуоли, клеточная стенка), в которых нет АПО, однако имеется большое количество фенолов (Чиркова, 2002). ГПО и ГвПО обладают повышенной чувствительностью к тяжелым металлам, поэтому их активность может служить одним из первых показателей окислительного стресса в растениях, вызванного их ионами (Mac Farlane, Burchett, 2001).

**Глутатионредуктаза** (ГР; КФ 1.6.4.2) ключевой фермент аскорбат-глутатионового цикла, который катализирует реакцию восстановления GSSG в GSH, сопровождающуюся окислением НАДФН (Foyer, Halliwell, 1976). Участие этого фермента в механизмах антиоксидантной защиты связано с поддержанием необходимого пула GSH в клетке, уровень которого снижается в присутствии тяжелых металлов в связи с его расходом на синтез фитохелатинов (Lascano et al., 2001; Hossian, Fujita, 2010).

**Глутатион-S-трансфераза** (GST; КФ 2.5.1.18) играет важную роль в инактивации продуктов окислительных нарушений биомолекул, образованных вследствие повышения уровня АФК в клетке. Фермент катализирует конъюгацию восстановленной формы глутатиона с разнообразными гидрофобными и электрофильными субстратами (Прадедова и др., 2011), участвует в восстановлении аскорбата из дегидроаскорбата (Dixon et al., 2002) и в детоксикации липидных радикалов, образованных в процессе ПОЛ (Гришко, Сыщиков, 2012).

Обобщающая схема генерирования АФК тяжелыми металлами и участие антиоксидантных ферментов в их удалении представлена на рис. 34.

Согласно результатам многих исследований, активность антиоксидантных ферментов в присутствии тяжелых металлов, как правило, увеличивается, что способствует снижению уровня АФК. Возрастание активности является следствием синтеза ферментов *de novo* (Foyer et al., 1997) и, как показывает анализ литературы (на примере кадмия), практически не зависит от концентрации металла и вида растений (табл. 16).

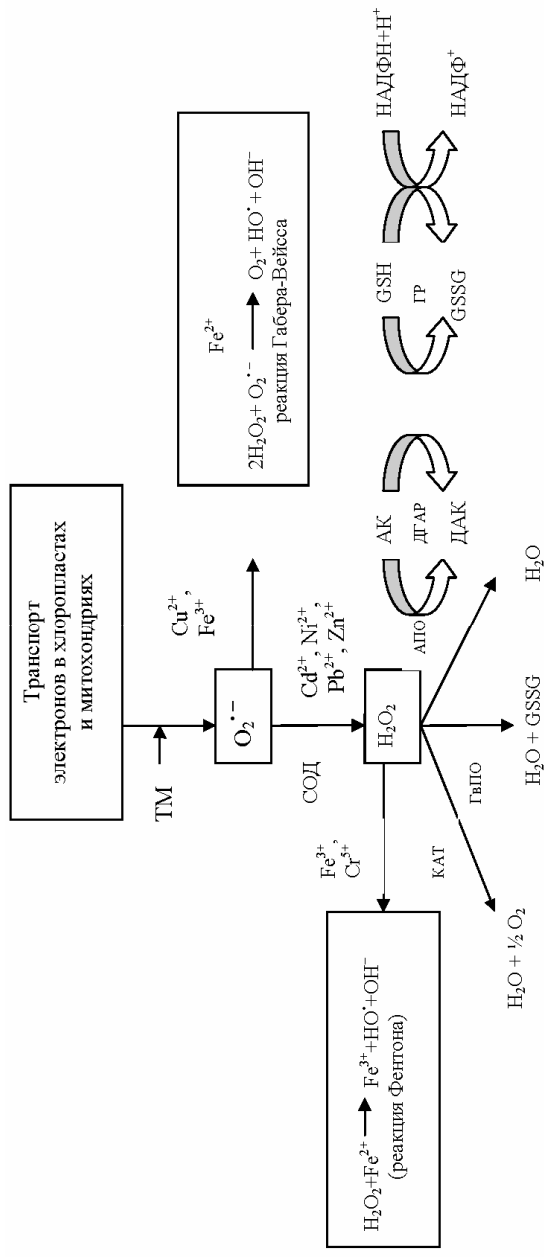


Рис. 34. Генерация АФК тяжелыми металлами и участие некоторых антиоксидантных ферментов в их устранении в клетке:

TM – тяжелые металлы; СОД – супероксиддисмутаза, КАТ – каталаза, ГвПО – гваяколовая пероксидаза, АПО – аскорбатпероксидаза, АК и ДАК – аскорбиновая и дегидроаскорбиновая кислоты, ДГ'АР – дегидроаскорбатредуктаза, GSH и GSSG – восстановленная и окисленная формы глутатиона, ГР – глутатионредуктаза (по: Pinto et al., 2003; Sharma, Dubey, 2005; Wahid et al., 2009)



Таблица 16. Активность антиоксидантных ферментов в клетках корней растений в присутствии кадмия

Фермент	Вид растения	Концентрация кадмия, мкМ	Активность фермента, % по отношению к контролю	Источник
АПО	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5	150	Skórzyńska-Polit et al., 2003/4
	<i>Bacopa monnieri</i>	25	220	Mishra et al., 2006
	<i>Pisum sativum</i>	45	130	Metwally et al., 2005
	<i>Orysa sativa</i>	100	200	Shah et al., 2013
	<i>Triticum aestivum</i>	900	300	Khan et al., 2007
ГвПО	<i>Arabidopsis thaliana</i>	10	350	Semane et al., 2006
	<i>Brassica napus</i>	10	130	Nouairi et al., 2009
	<i>Bacopa monnieri</i>	25	240	Mishra et al., 2006
	<i>Pisum sativum</i>	45	170	Metwally et al., 2005
	<i>Triticum aestivum</i>	400	430	Amirjani, 2012
ГР	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5	200	Skórzyńska-Polit et al., 2003/4
	<i>Brassica napus</i>	10	130	Nouairi et al., 2009
	<i>Pisum sativum</i>	40	150	Dixit et al., 2001
	<i>Triticum aestivum</i>	400	180	Amirjani, 2012
	<i>Cajanus cajan</i>	450	230	Garg, Kaur, 2013
GST	<i>Pisum sativum</i>	40	180	Dixit et al., 2001
	<i>Phragmites australis</i>	50	250	Iannelli et al., 2002
	<i>Pisum sativum</i>	45	200	Metwally et al., 2005
КАТ	<i>Orysa sativa</i>	100	250	Shah et al., 2013
	<i>Cajanus cajan</i>	450	210	Garg, Kaur, 2013
	<i>Hordeum vulgare</i>	500	160	Demirevska-Kepova et al., 2006
	<i>Hordeum vulgare</i>	500	160	Demirevska-Kepova et al., 2006
СОД	<i>Arabidopsis thaliana</i>	10	140	Semane et al., 2006
	<i>Pisum sativum</i>	40	120	Dixit et al., 2001
	<i>Orysa sativa</i>	50	190	Hu et al., 2009
	<i>Nicotiana tabacum</i>	100	140	Iannone et al., 2010
	<i>Triticum aestivum</i>	400	300	Amirjani, 2012
	<i>Cajanus cajan</i>	450	250	Garg, Kaur, 2013

Необходимо также отметить, что активность разных антиоксидантных ферментов может по-разному изменяться при воздействии тяжелых металлов на растения. Например, в присутствии кадмия в корнях гороха снижалась активность СОД, тогда как активность АПО увеличивалась (Dixit et al., 2001), в корнях риса – активность СОД и GST увеличивались, а АПО и КАТ снижались

(рис. 35) (Hu et al., 2009), в листьях *B. napus* при снижении активности КАТ увеличивалась активность ГПО (Nouairi et al., 2009), а в листьях *A. thaliana* при уменьшении активности АПО заметно возрастала активность ГР (Skórzyńska-Polit et al., 2003/2004). Предполагается, что баланс активностей разных ферментов является чрезвычайно важным моментом эффективности работы АОС, защищающей клетки от АФК, и снижение активности одних ферментов компенсируется усилением активности других.

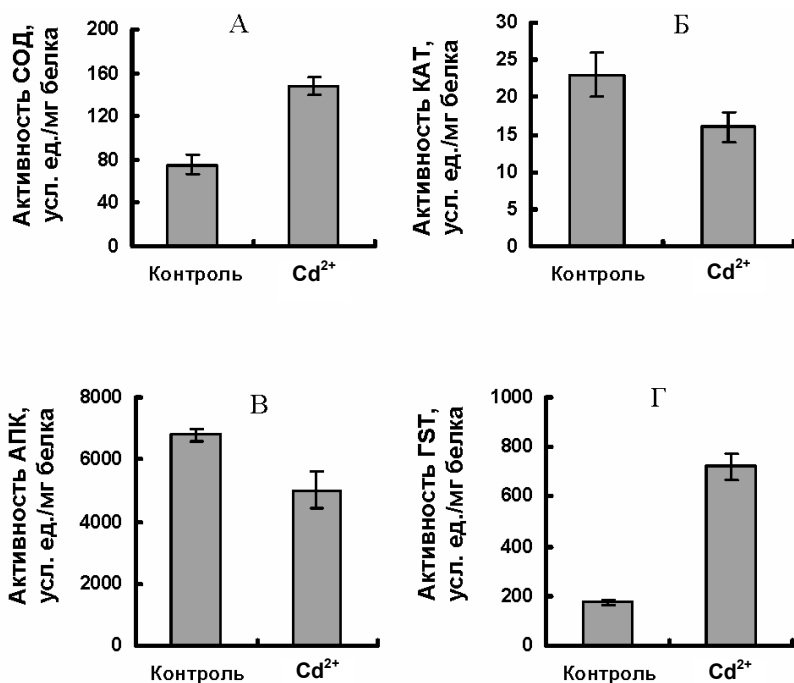


Рис. 35. Активность антиоксидантных ферментов в корнях растений риса при действии кадмия (50 мкМ) (по: Hu et al., 2009):

А – супероксиддисмутаза (СОД), Б – каталаза (КАТ), В – аскорбатпероксидаза (АПО), Г – глутатион-S-трансфераза (ГСТ)

Вместе с тем имеется также ряд публикаций, в которых описано только снижение активности ферментов антиоксидантной защиты в присутствии тяжелых металлов. Так, под влиянием кадмия снижалась

активность КАТ у растений фасоли (Chaoui et al., 1997), подсолнечника (Gallego et al., 1996) и гороха (Lozano-Rodriguez et al., 1997; Dixit et al., 2001). В присутствии этого же металла у растений *Phragmites australis* уменьшалась активность СОД, АПО, ГР и КАТ (Iannelli et al., 2002), у гороха – ГПО (Dixit et al., 2001), у кукурузы – АПО (Rellán-Álvarez et al., 2006), у *B. napus* – активность СОД, КАТ и АПО (Nouairi et al., 2009). При действии меди у растений овса снижалась активность КАТ и АПО (Luna et al., 1994). Среди основных причин уменьшения активности ферментов при действии тяжелых металлов авторы указывают ингибирование их биосинтеза и нарушение структуры молекул. Но, поскольку авторами не отмечено в этих условиях сильного торможения роста растений, не исключена возможность того, что увеличивалась активность других ферментов антиоксидантной защиты, которые не были исследованы в указанных работах.

Анализ литературы не позволяет сделать однозначные выводы относительно наличия четко выраженных концентрационных зависимостей изменения активности ферментов в присутствии тяжелых металлов. Не обнаружилось также влияние разных металлов на их активность. Например, при выращивании растений ячменя на питательных растворах, содержащих  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  в концентрациях, вызывающих примерно равное ингибирование длины корня, активность ГПО и GST в корнях была практически одинаковой (рис. 36). Возможно, что активность ферментов в большей степени зависит от продолжительности воздействия токсичных ионов. Так, в присутствии цинка и хрома активность КАТ после двух дней экспозиции на растворе с металлами увеличивалась, тогда как после четырех дней – уменьшалась, активность же ГПО увеличивалась на 4-й и 6-й день, а к 8-м суткам снижалась (Panda et al., 2003). При действии кадмия на растения табака активность СОД в листьях через 3 часа увеличивалась, а через 21 час – снижалась (Iannone et al., 2010), а у растений гороха в присутствии этого же металла активность ГПО увеличивалась на 6-е сут и возвращалась на уровень контрольного варианта на 10-е сут (Гришко, Сычиков, 2012). Обнаружены также различия в активности антиоксидантных ферментов в зависимости от органа. Например, в корнях *B. napus* при действии меди активность ГР снижалась, а в листьях, наоборот, повышалась (Russo et al., 2008).

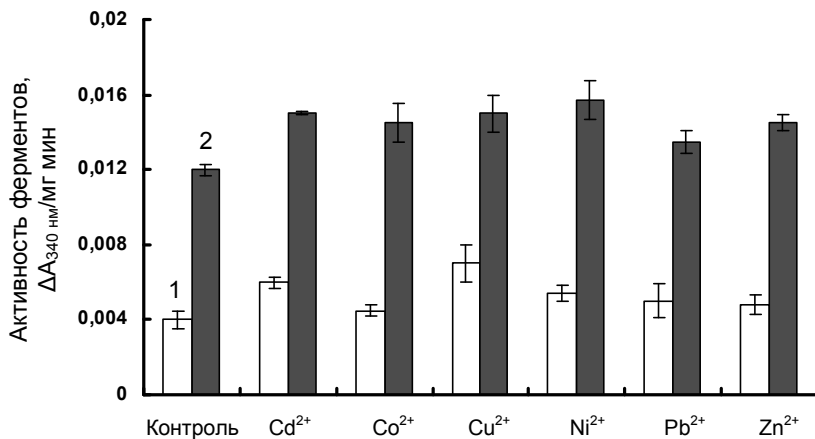


Рис. 36. Влияние тяжелых металлов (0.5 мМ Cd<sup>2+</sup>; 1 мМ Cu<sup>2+</sup> и Pb<sup>2+</sup>; 3 мМ Co<sup>2+</sup> и Ni<sup>2+</sup>; 6 мМ Zn<sup>2+</sup>) на активность глутатионпероксидазы (1) и глутатион-S-трансферазы (2) в корне растений ячменя (по: Haluškova et al., 2009)

В последние годы большое внимание уделяется изучению влияния тяжелых металлов на экспрессию генов, ответственных за синтез антиоксидантных ферментов (Sandalio et al., 2001; Fornazier et al., 2002; Yoshimura et al., 2004). Результаты проводимых в этой области исследований выявили значительное увеличение уровня их экспрессии при действии разных тяжелых металлов. Например, при действии ртути возрастало содержание транскриптов генов *GPX*, *GR 1* и *GR 2* в клетках растений гороха (Sävenstrand, Strid, 2004) и люцерны (Ortega-Villasante et al., 2007). В присутствии кадмия в корнях и листьях *A. thaliana* повышался уровень экспрессии генов *AtSOD*, *AtAPX*, *AtGR*, *AtCAT* (Smeets et al., 2008), в корнях риса – генов *OsGST1*, *OsGST2*, *OsGST3*, *OsAPX* и *OsGR* (Lee et al., 2010a), а у растений *Lolium perenne* кадмий индуцировал повышенную экспрессию генов ферментов СОД, АПК, ГПО и ГР (Luo et al., 2011). Важно, что возрастание уровня экспрессии некоторых генов приводит к увеличению устойчивости растений к тяжелым металлам. Так, возрастание количества транскриптов генов ферментов Cu/Zn-СОД и АПО у трансгенных растений *Festuca arundinacea* коррелировало с увеличением их устойчивости

к  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{As}^{2+}$  (Lee et al., 2007b). Трансгенные же растения табака с низким уровнем КАТ, наоборот, обнаруживали повышенную чувствительность к кадмию (Iannone et al., 2010). Авторы считают, что гены, ответственные за синтез ферментов антиоксидантной защиты, могут играть важную роль в устойчивости растений к тяжелым металлам. На этом основании в настоящее время предприняты попытки создания с помощью методов генной инженерии растений с высокой активностью антиоксидантных ферментов, которые обладают повышенной устойчивостью к целому ряду абиотических стрессоров, включая тяжелые металлы.

Помимо антиоксидантных ферментов в устранении избыточных количеств АФК принимают участие и неферментные низкомолекулярные соединения, важнейшими из которых являются аскорбиновая кислота, восстановленный глутатион,  $\alpha$ -токоферол, каротиноиды и пролин.

**Аскорбиновая кислота (АК)** – ключевой антиоксидант, действующий во всех клеточных компартментах, где возможно образование АФК. Ее антиоксидантные функции обусловлены тем, что АК является потенциальным донором протонов, используемых для восстановления перекиси (Полесская, 2007). Окисление АК приводит к ликвидации АФК на мембранах органелл, в апопласте и хлоропластах. Кроме того, АК способна реагировать с супероксидным и гидроксильным радикалами и тем самым снижать их концентрацию в клетке. В присутствии тяжелых металлов содержание АК обычно возрастает, способствуя увеличению устойчивости растений к окислительному стрессу (Skórzyńska-Polit et al., 2003/2004; Martínez-Domínguez et al., 2008; Hu et al., 2009).

**Глутатион** является жизненно важным элементом антиоксидантной системы растительных клеток, защищающей их от окислительного стресса, вызванного действием различных неблагоприятных факторов внешней среды. Взаимодействуя с АФК, GSH преобразуется в окисленную форму (GSSG) (Vanacker et al., 2000; Noctor et al., 2002b; Szalai et al., 2009). Известно, что поддержание в клетке оптимального уровня общего пула глутатиона необходимо для нормальной метаболической активности клетки, поэтому при стрессовом воздействии чрезвычайно важно поддержание необходимого уровня GSH за счет его синтеза. В присутствии тяжелых

металлов вследствие расходования GSH на синтез ФХ опасность изменения соотношения GSH/GSSG весьма высока, что может приводить к целому ряду негативных последствий, связанных с изменением окислительно-восстановительного потенциала клетки.

**$\alpha$ -токоферол** относится к фенольным антиоксидантам. У растений и фотосинтезирующих микроорганизмов он находится, в основном, на мембранах тилакоидов хлоропластов (Gill, Tuteja, 2010).  $\alpha$ -токоферол обладает способностью взаимодействовать с  $O_2^{\bullet -}$  и  $^1O_2$ . Помимо этого, он неферментативно реагирует с липидными радикалами, в результате чего блокируется процесс ПОЛ (Mittler, 2002). Участие  $\alpha$ -токоферола в устойчивости растений к тяжелым металлам доказывают, в частности, опыты с мутантными растениями *A. thaliana* с дефицитом  $\alpha$ -токоферола в клетках (*vte1*), которые характеризуются повышенной чувствительностью к кадмию и меди (Collin et al., 2008).

**Каротиноиды** локализованы, в основном, в хлоропластах и защищают фотосинтетический аппарат от АФК (Креславский и др., 2012). Они являются наиболее эффективными молекулами для устранения синглетного кислорода (Мерзляк, 1999). Показано, что каротиноиды «обрывают» реакции ПОЛ (Мерзляк, 1999) и усиливают действие  $\alpha$ -токоферола при связывании АФК (Burton, Ingold, 1984).

**Пролин.** Участие пролина в системе антиоксидантной защиты клеток от окислительного стресса было обнаружено относительно недавно. Предполагают, что пролин участвует в детоксикации гидроксил-радикала и супероксид-радикала (Радюкина и др., 2008; Шевякова и др., 2009). Исходя из химической структуры молекулы пролина, а именно – способности образовывать устойчивый радикал, предполагается, что он может принимать участие в «тушении» свободно-радикальных реакций, в том числе ПОЛ (Шевякова и др., 2009).

В целом значение неферментных низкомолекулярных антиоксидантов в клетке в условиях окислительного стресса, вызванного действием тяжелых металлов, велико. При быстром истощении конститутивного пула ферментов свободными радикалами вследствие негативного влияния токсичных ионов на структуру молекул и биосинтез ферментов и необходимости определенного времени для их синтеза *de novo* антиоксидантную защиту осуществляют, в основном, неферментные соединения АОС (Кения и др., 1993).

В настоящее время большое внимание уделяется выявлению зависимости между уровнем активности компонентов АОС (ферментов и неферментных соединений) и устойчивостью растений к тяжелым металлам (Verma, Dubey, 2003; Foyer, Noctor, 2005; Ху и др., 2007). При изучении других видов стрессового воздействия обнаружено, что более устойчивые виды (сорта, генотипы) обладают более высоким содержанием соединений-антиоксидантов, а также большей активностью ферментов антиоксидантной защиты (Hegedus et al., 2001; Wu et al., 2003; Benavides et al., 2005; Ершова и др., 2011). При этом устойчивость растений к окислительному стрессу может обеспечиваться увеличением активности как одного, так и нескольких ферментов (Shi et al., 2006). В отношении тяжелых металлов такого рода данных гораздо меньше. Тем не менее обнаружена прямая зависимость между устойчивостью разных сортов гороха к кадмию и содержанием в клетках корня GSH (Metwally et al., 2003). Устойчивые к этому же металлу генотипы *P. australis* обладали более высокой активностью таких ферментов-антиоксидантов, как ГР и ГПК (Iannelli et al., 2002). Очевидно, дальнейшее изучение этого вопроса имеет важное практическое значение при отборе устойчивых видов растений для целей фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами.

В целом тяжелые металлы вызывают у растений сильный окислительный стресс, связанный с резким повышением уровня АФК в клетке. Однако эффективная работа АОС, которая включает в себя целый ряд ферментов и неферментных низкомолекулярных соединений, в значительной степени инактивирует их негативное действие на растения. Поэтому увеличение активности компонентов АОС является важным механизмом защиты клеток растений от влияния тяжелых металлов наравне со связыванием токсичных ионов фитохелатинами и транспортом таких комплексов в вакуоль. И только высокие концентрации тяжелых металлов приводят к потере способности АОС контролировать уровень АФК, что в конечном счете может привести к гибели клеток и растения в целом.

Резюмируя все вышеизложенное, следует еще раз подчеркнуть, что у растений имеется целый ряд механизмов, обеспечивающих им возможность нормально расти и развиваться в условиях повышенного содержания тяжелых металлов в окружающей среде.

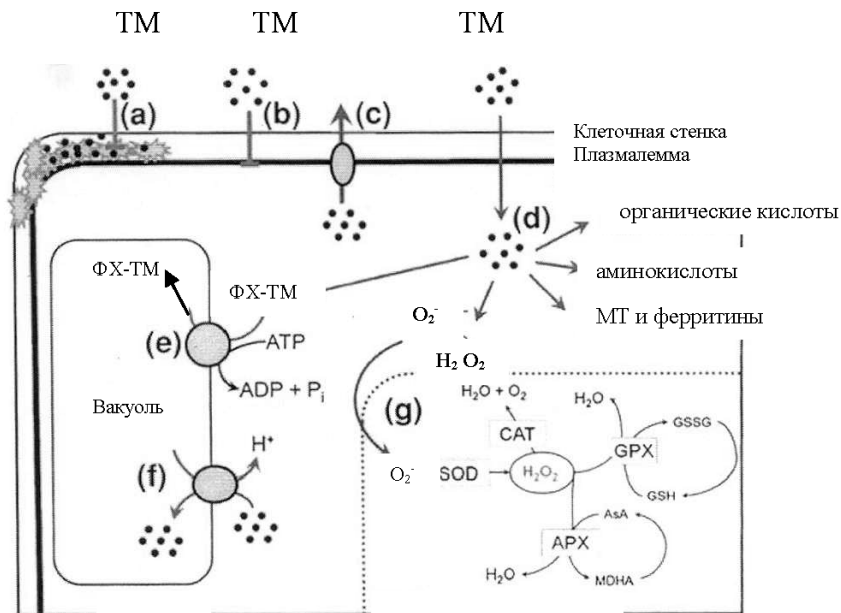


Рис. 37. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам (ТМ) (по: Manara, 2012):

а – связывание ионов тяжелых металлов корневыми выделениями в ризосфере и клеточной стенкой; б – ограничение поступления через плазмалемму; в – выведение токсичных ионов из цитоплазмы через плазмалемму в апопласт; д – связывание тяжелых металлов различными хелаторами в цитоплазме с образованием комплексов; е, ф – изоляция в вакуоли комплексов и свободных ионов, г – индукция элементов АОС

Важное место среди них занимают клеточные механизмы устойчивости (рис. 37): связывание ионов тяжелых металлов корневыми выделениями в ризосфере, ограничение их поступления в клеточной стенке и плазмалемме, выведение токсичных ионов из цитоплазмы через плазмалемму в свободное пространство, связывание тяжелых металлов различными хелаторами в цитоплазме; изоляция свободных ионов или их комплексов в вакуоли, а также индукция элементов АОС.



## ГЛАВА 4

### **ВОСПРИЯТИЕ И ПЕРЕДАЧА В КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ СИГНАЛА О ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Передача сигнала в растениях о действии тяжелых металлов, так же как и других стресс-факторов, на уровне клеток включает в себя три основных этапа: а) восприятие (рецепцию) сигнала, б) передачу и усиление (трансдукцию) сигнала, в) изменения в экспрессии генов (Лутова и др., 2010). Причем этот процесс осуществляется с участием сложной сети сигнальных систем (Maksymiec, 2007; DalCorso et al., 2010; Vaahtera, Brosché, 2011; Bartoli et al., 2013; Gallego et al., 2012; Lin, Aarts, 2012; Sytar et al., 2013). Внешние сигналы, поступившие в растительную клетку из окружающей среды, воспринимаются с помощью специальных рецепторов (сенсоров), расположенных на клеточной мембране и в цитоплазме. В дальнейшем в преобразовании и передаче сигнала, вызванного действием стрессора, участвуют различные компоненты сигнальных систем (сигнальных путей) растений – сигнальные молекулы, система  $\text{Ca}^{2+}$ –кальмодулин, протеинкиназы, транскрипционные факторы, специфически влияющие на экспрессию генов (Лутова и др., 2010). Не исключено, что дальнейшие исследования приведут к расширению этого списка.

#### **4.1. Восприятие сигнала о действии тяжелых металлов**

В настоящее время считают, что в качестве рецепторов (сенсоров), воспринимающих внешние воздействия абиотических факторов, могут выступать рецепторные белки с ферментативной активностью; рецепторы, сопряженные с гетеротримерными G-белками;

а также рецепторы – кальциевые каналы (Tor et al., 2009; Лутова и др., 2010).

Как известно, первичной мишенью для тяжелых металлов является клеточная стенка растений (Blinda et al., 1997). Высказано предположение, что в дальнейшем тяжелые металлы могут связываться с рецепторами, локализованными на плазмалемме клеток, тем самым генерируя стрессовый сигнал (Thévenod, 2009; DalCorso et al., 2010). Считается также, что тяжелые металлы действуют на все клеточные мембраны растений, включая тилакоидные мембраны хлоропластов (Maksymiec, 2007). Но точных и детальных данных о рецепторах тяжелых металлов на сегодняшний день очень мало. По сути, на этот счет имеются лишь единичные сведения. В частности, в корнях устойчивых и неустойчивых к ионам меди сортов риса совсем недавно был выявлен рецептороподобный белок LPK (*putative receptor-like protein kinase*) (Song et al., 2013).

Попутно отметим, что значительную роль клеточной стенке и плазматической мембране отводят в восприятии и других абиотических стрессорных сигналов (Kasperska, 2004; Niklas, 2008). Однако, несмотря на то что принципиальная схема передачи сигнала различных стрессоров, по-видимому, общая (восприятие сигнала сенсором, его передача от сенсора к первичной мишени, экспрессия генов), детали этого процесса и особенности первичного восприятия сенсорного сигнала пока не выяснены (Колупаев, Карпец, 2010).

## **4.2. Участие вторичных мессенджеров в передаче сигнала**

В передачу сигнала о действии на клетку растения стрессоров, в том числе тяжелых металлов, могут быть вовлечены различные сигнальные молекулы – вторичные мессенджеры (вторичные посредники) (Maksymiec, 2007; Mazzucotelli et al., 2008; Thévenod, 2009; Gallego et al., 2012). Они способны перемещаться по клетке и запускать работу белков, участвующих в трансдукции сигналов. Важными функциями вторичных мессенджеров является усиление сигнала на каждом этапе сигнального каскада, а также взаимодействие и перекрестная активация нескольких сигнальных путей, что может иметь большое значение для общей координации ответных реакций растений (Лутова и др., 2010).

Как показывают исследования, среди внутриклеточных мессенджеров особая роль принадлежит активным формам кислорода и ионам кальция (Kaur, Gupta, 2005). Но для формирования адаптивного ответа существенное значение могут иметь и другие сигнальные молекулы – оксид азота (NO), циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), а также фитогормоны (салициловая кислота, жасмонат, абсцизовая кислота, ауксины, брассиностероиды) и полиамины (путресцин, спермидин, спермин) (Chmielowska-Bak et al., 2014).

**Активные формы кислорода (АФК).** В настоящее время доказано, что АФК при различных стрессорных воздействиях могут выполнять двоякую роль: они или непосредственно инициируют интенсивный окислительный стресс, сопровождающийся повреждениями клеток, или действуют в качестве сигнальных молекул, индуцирующих ряд молекулярных, биохимических и физиологических реакций, которые способствуют активизации адаптивных механизмов и повышению устойчивости растений (Jaspers, Kangasjärvi, 2010; Креславский и др., 2012; Bartoli et al., 2013).

При действии тяжелых металлов на растения АФК также, с одной стороны, вызывают повреждение клеточных структур, а с другой стороны, могут выступать в качестве вторичных мессенджеров (Syta et al., 2013). Повреждающее действие АФК на клетки растений, подвергнутых действию тяжелых металлов, подробно рассмотрено в главе 3.5. В данном разделе остановимся на АФК как посредниках при передаче сигналов в ядро.

Как уже отмечалось, в последние годы АФК рассматриваются в качестве важнейших сигнальных молекул, вовлеченных в передачу внутриклеточных сигналов, регулирующих экспрессию генов и активность защитных систем. Считается, что реализация сигнальной функции АФК может осуществляться через изменение потенциала редокс-чувствительных клеточных компонентов, регуляцию процессов фосфорилирования/дефосфорилирования сигнальных белков (транскрипционных факторов), регуляцию уровня вторичных мессенджеров, а также через изменение антиоксидантной активности в клетке (Креславский и др., 2012). Например, перекись водорода ( $H_2O_2$ ) является универсальной сигнальной молекулой, которая регулирует ответ растений на различные биотические и

абиотические стресс-факторы.  $H_2O_2$  – наименее токсичная по сравнению с другими АФК и относительно долгоживущая молекула (Vranová et al., 2002), которая может преодолевать значительные расстояния и проникать через мембраны (Bienert et al., 2007). Считается, что перекись водорода, как и некоторые другие АФК, способна модулировать активность сигнальных компонентов, таких как MAP-киназы и фосфатазы, факторы транскрипции и кальциевые каналы (Jaspers, Kangasjärvi, 2010).

Судя по имеющимся данным, одним из ранних ответов растения на воздействие тяжелых металлов является усиление генерации АФК, в первую очередь  $H_2O_2$ , которая выступает в качестве ключевой сигнальной молекулы, вовлеченной в передачу стрессорных сигналов, регулирующих экспрессию генов и активность защитных систем (Maksymiec, 2007). Например, увеличение содержания  $H_2O_2$  отмечено при воздействии меди и кадмия на растения *A. thaliana* (Maksymiec, Krupa, 2006; Ann et al., 2011), кадмия – на растения пшеницы (Wang et al., 2011), ртути – на растения томата (Cho, Park, 2000) (табл. 17). Установлено, что ионы меди индуцируют образование АФК прямо или опосредованно, через изменение экспрессии микроРНК398 (miR398) – коротких молекул РНК, которые связываются с комплементарными участками мРНК, тем самым инактивируют и помечают ее для последующей деградации рибонуклеазой (Huang et al., 2009). Кадмий индуцирует образование АФК через регуляцию активности НАДФН-оксидазы (Groppa et al., 2012), содержания ионов кальция (Romero-Puertas et al., 2004), а также ингибирование экспрессии miR398 (Sunkar et al., 2006).

Образовавшаяся перекись водорода активирует специфические протеинкиназы, которые, в свою очередь, регулируют экспрессию генов, участвующих в защитных реакциях растений на действие тяжелых металлов (Gallego et al., 2012). В восприятии и передаче сигнала о накоплении АФК основная роль отводится сенсорам белковой природы. В частности, предполагается, что в передаче сигнала об индуцированном тяжелыми металлами накоплении  $H_2O_2$  участвует белок OXI1 (*oxidative signal-inducible 1*), а о накоплении супероксида – белки EX1 или EX2 (*executer 1, 2*) (Rentel et al., 2004; Lee et al., 2007a). Эти сенсорные белки участвуют в

трансдукции сигнала на MAP-киназный каскад, который может активировать большое число транскрипционных факторов (Jonak et al., 2002). Сигнал может передаваться к MAP-киназному каскаду и/или факторам транскрипции либо от этих сенсорных белков, либо напрямую от  $H_2O_2$  (Креславский и др., 2012). В результате активируется транскрипция генов, продукты которых необходимы для нейтрализации АФК. Молекулы  $H_2O_2$  могут также регулировать экспрессию генов на уровне трансляции, например, окисляя остатки цистеина фактора элонгации G (EF-G) в хлоропластах и блокируя трансляцию новых белков (Nishiyama et al., 2011).

Таблица 17. Вторичные мессенджеры, участвующие в сигналинге тяжелых металлов у растений

Сигнальные молекулы	Металл	Вид растения	Источник
$H_2O_2$	$Cd^{2+}$ $Cd^{2+2+}$ $Cd^{2+}$ $Cd^{2+}$ , $Cu^{2+}$ $Hg^{2+}$	<i>Nicotiana tabacum</i> <i>Pisum sativum</i> <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>Lycopersicon esculentum</i>	Olmos et al., 2003 Romero-Puetras et al., 2004 Cho, Seo, 2005 Ann et al., 2011 Cho, Park, 2000
	$Cu^{2+}$ , $Mn^{2+}$	<i>Hordeum vulgare</i>	Demirevska-Kepova et al., 2004
$Ca^{2+}$	$Cu^{2+}$	<i>Phaseolus faba</i>	Maksymiec, Baszyński, 1999
Этилен	$Cd^{2+}$ $Cd^{2+}$ $Cu^{2+}$ , $Zn^{2+}$	<i>Oryza sativa</i> <i>Raphanus sativus</i> <i>Phaseolus vulgaris</i>	Hsu, Kao, 2003 Rivetta et al., 1997 Gora, Clijsters, 1989
	$Fe^{2+}$ $Cd^{2+}$	<i>Oryza sativa</i> <i>Hordeum vulgare</i>	Yamauchi, Peng, 1995 Vassilev et al., 2004
	$Cu^{2+}$ $Cd^{2+}$ $Cd^{2+}$ , $Cu^{2+}$	<i>Oryza sativa</i> <i>Oryza sativa</i> <i>Arabidopsis thaliana</i>	Rakwal et al., 1996 Agrawal et al., 2003 Maksymiec et al., 2005
Жасмоновая кислота	$Cd^{2+}$ $Cd^{2+}$ $Cd^{2+}$ , $Cu^{2+}$	<i>Arabidopsis thaliana</i> <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>Hordeum vulgare</i>	Zawoznik et al., 2007 Metwally et al., 2003
Салициловая кислота	$Cd^{2+}$ $Cu^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , $Hg^{2+}$	<i>Oryza sativa</i> <i>Oryza sativa</i>	Kim et al., 2003
Абсцизовая кислота	$Cd^{2+}$ $Cd^{2+}$	<i>Solanum tuberosum</i>	Hsu, Kao, 2003 Stroiński et al., 2013
Оксид азота	$Cd^{2+}$ $Cd^{2+}$ $Cd^{2+}$	<i>Nicotiana tabacum</i> <i>Helianthus annuus</i> <i>Oryza sativa</i>	Gould et al., 2003 Groppa et al., 2008 Xiong et al., 2009
	$Cd^{2+}$	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Villers et al., 2012
	$Cd^{2+}$	<i>Arabidopsis thaliana</i>	

Обобщенная схема участия АФК в трансдукции сигнала в клетках растений в ответ на действие тяжелых металлов (Lin, Aarts, 2012) представлена на рис. 38. Тяжелые металлы (медь и кадмий) вызывают накопление АФК тремя путями: 1) избыток  $\text{Cd}^{2+}$  индуцирует экспрессию *miR398*, которая ингибирует  $\text{Cu/Zn-COD}$  (COD), что в дальнейшем приводит к накоплению АФК; 2) избыток  $\text{Cd}^{2+}$  влияет на уровень  $\text{Ca}^{2+}$ , который также стимулирует накопление АФК через изменение активности СОД; 3) избыток  $\text{Cd}^{2+}$  повышает активность НАДФН-оксидазы, что приводит к дополнительному накоплению  $\text{H}_2\text{O}_2$ . АФК с помощью сенсоров АФК – белков OXI1, EX1, EX2 передают сигналы, которые индуцируют MAP-киназный каскад, активирующий, в свою очередь, транскрипционные факторы в ядре. В дальнейшем транскрипционные факторы регулируют экспрессию генов через связывание с *cis*-регуляторными элементами и контролируют таким образом ответ растений на действие тяжелых металлов.

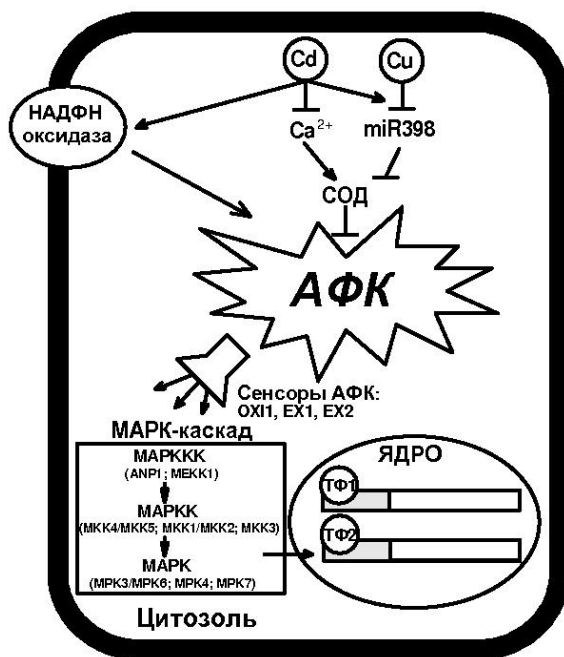


Рис. 38. Участие активных форм кислорода в трансдукции сигнала о действии тяжелых металлов на растения (по: Lin, Aarts, 2012):

АФК – активные формы кислорода, MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа, MAPKK – MAP-киназа, MAPKKK – MAP-киназа-киназа, СОД – супероксиддисмутаза, ТФ – транскрипционный фактор, *miR398* – микроРНК398, OXI1 – Oxidative signal-inducible 1, EX1 – Executer 1, EX2 – Executer 2

**Ионы кальция.** Важную роль в клеточном сигналинге играет такой универсальный вторичный мессенджер, как ионы кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ), а также сигнальная система  $\text{Ca}^{2+}$ –кальмодулин, которая может активироваться под влиянием тяжелых металлов, в том числе кадмия (DalCorso et al., 2008, 2010). В ответ на действие кадмия открываются кальциевые каналы и происходит резкое (в течение секунд и минут) повышение концентрации кальция в цитоплазме. Ионы кальция связываются с низкомолекулярным регуляторным белком кальмодулином, что позволяет комплексу  $\text{Ca}^{2+}$ –кальмодулин активировать протеинкиназы, фосфорилирующие белки. Это, в свою очередь, приводит к изменению функциональной активности и к последующей индукции экспрессии генов, продукты которых вовлечены в формирование устойчивости к кадмию. Система кальций–кальмодулин также участвует в восприятии сигнала и других металлов. Например, трансгенные растения табака со сверхэкспрессией гена *NtCBP4* (*N. tabacum calmodulin-binding protein*), кодирующего кальмодулин-связывающий белок, характеризуются высокой устойчивостью к  $\text{Ni}^{2+}$  и чувствительностью к  $\text{Pb}^{2+}$  (Arazi et al., 1999).

Показано, что ионы  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  индуцируют накопление  $\text{Ca}^{2+}$  и активацию кальций-зависимой протеинкиназы (calcium-dependent protein kinase – CDPK) в корнях риса и вследствие этого способны вызывать активацию MAPK-киназного каскада (Yeh et al., 2007). Таким образом, тяжелые металлы индуцируют активацию MAPK-киназного каскада через различные сигнальные пути.

Наряду с АФК и ионами кальция, в передаче сигнала о воздействии на растения тяжелых металлов участвуют фитогормоны – этилен, салициловая, жасмоновая и абсцизовая кислоты и, возможно, брассиностероиды (DalCorso et al., 2010; Villers et al., 2012).

**Этилен.** Усиление синтеза этилена наблюдали при действии на растения Cd, Cu, Fe, Zn, причем в случае с Cd и Cu это увеличение было следствием повышения активности фермента синтазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК-синтазы) и экспрессии ее генов (Maksymiec, 2007). Участие этилена в качестве сигнальной молекулы в передаче сигнала о действии тяжелых металлов показано на различных видах растений (табл. 17).

**Жасмоновая кислота.** Установлено, что под влиянием Cd и Cu у *A. thaliana*, риса и бобов повышается в течение нескольких часов содержание жасмоновой кислоты (жасмоната) (Maksymiec et al., 2005; Maksymiec, 2007). Показано, что тяжелые металлы могут индуцировать жасмонатные пути и/или липооксигеназу и через них вызывать накопление АФК, причем жасмоновая кислота также усиливает образование этилена путем стимуляции АЦК-синтазы (Maksymiec, 2007).

Кроме того, предполагается, что в качестве сигнальных молекул могут выступать оксипиены, образующиеся из линоленовой кислоты в ходе синтеза жасмоновой кислоты (Maksymiec, 2007).

**Салициловая кислота.** Кадмий стимулирует накопление салициловой кислоты – еще одного гормона, включенного в клеточную сигнализацию (Maksymiec, 2007), а предобработка салициловой кислотой снижает токсическое действие этого металла (Chao et al., 2010).

**Абсцизовая кислота (АБК).** АБК очень часто рассматривается многими исследователями как гормон стресса и важный элемент неспецифической устойчивости (Gusta et al., 2005; Титов, Таланова, 2009). Неудивительно поэтому, что воздействие кадмия на растения приводит к повышению в них уровня АБК (Таланова и др., 1999; Talanova et al., 2000). Китайские ученые (Hsu, Kao, 2003) показали более значительное накопление АБК у устойчивого к кадмию сорта риса Tainung 67 по сравнению с чувствительным сортом Taichung Nativel. По мнению авторов, отмеченный при этом низкий уровень активности МАР-киназы у чувствительного сорта риса может быть следствием более низкого содержания АБК, а активация МАРК у устойчивого сорта, вероятно, связана с высоким уровнем АБК.

В недавних экспериментах с картофелем (*Solanum tuberosum*) показано, что под влиянием кадмия происходит не только увеличение содержания АБК в его корнях, но и накопление транскриптов генов, кодирующих фитохелатинсинтазу (*StbPCS1*) и транскрипционный фактор *StbZIP* (Stroiński et al., 2013). Ингибирование синтеза АБК с помощью флуридона приводило к подавлению транскрипции этих генов, что свидетельствует об участии АБК в трансдукции кадмиевого сигнала в клетках корня картофеля.



**Брассиностероиды.** Совсем недавно получены первые данные о возможности взаимодействия между сигнальными путями действия брассиностероидов и кадмия (Villers et al., 2012). Авторами на растениях *A. thaliana* показано сходство уровня экспрессии 75 % изученных генов ответа на брассиностероиды и генов ответа на действие кадмия. На основе этих данных высказано предположение о том, что брассиностероиды могут регулировать реакцию растения на действие кадмия.

**Ауксины.** В последние годы начинают накапливаться сведения об участии ауксинов в реакции растений на действие ионов кадмия (Bočová et al., 2013; Zhao et al., 2013). Однако имеющиеся факты единичны, нередко носят противоречивый характер и пока не позволяют сделать определенных выводов о роли ауксинов в передаче сигнала о действии тяжелых металлов (Chmielowska-Bąk et al., 2014).

**Оксид азота (NO).** В последние годы установлено, что тяжелые металлы могут приводить к изменению содержания в растениях эндогенного NO (Xiong et al., 2010). Высказано предположение, что NO может быть ключевой сигнальной молекулой, вовлеченной в ответ растения на действие кадмия (Rodrigues-Serrano et al., 2009; Xiong et al., 2009, 2010; Zhang et al., 2012). Однако пока ничего неизвестно о конкретных генах, регулируемых NO при действии тяжелых металлов на растения.

Отметим, что оксид азота может выступать также в качестве антиоксиданта у растений при действии кадмия (Hsu, Kao, 2003; Singh et al., 2008). Вместе с тем показано, что в каких-то случаях NO может и усиливать токсическое действие кадмия, способствуя его аккумуляции в растении (Besson-Bard et al., 2009).

Оксид азота является основным компонентом NO-сигнальной системы растений, при этом его действие тесно сопряжено с другими сигнальными молекулами (ионы кальция, АФК, салициловая кислота) (Wilson et al., 2008). NO также вовлечен в трансдукцию сигналов таких фитогормонов, как этилен и АБК (Xing et al., 2004). В настоящее время не вызывает сомнений, что NO, наряду с такими универсальными сигнальными молекулами, как кальций и АФК, принимает участие в формировании защитно-приспособительных реакций на действие абиотических стрессоров.

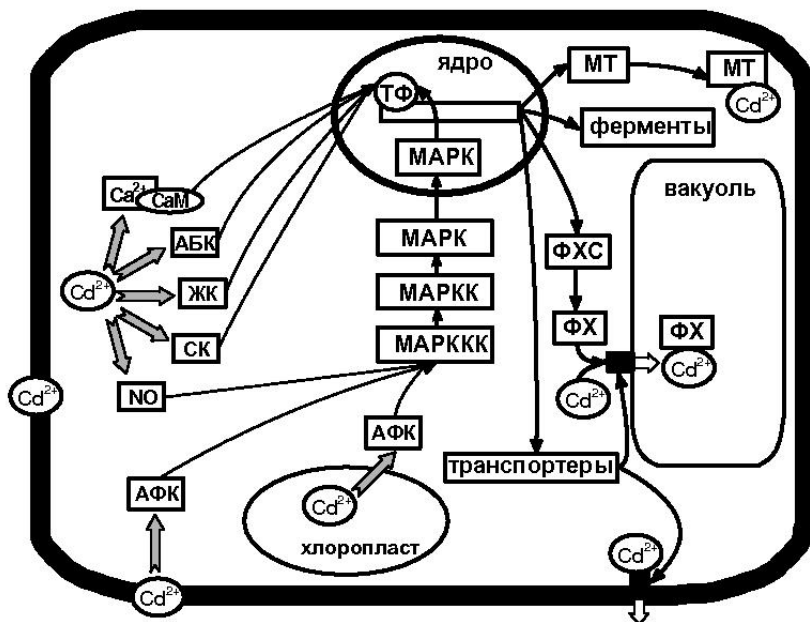


Рис. 39. Трансдукция сигнала о действии кадмия на растения (по: Maksymiec, 2007; DalCorso et al., 2010; Gallego et al., 2012; Sytar et al., 2013):

АБК – абсцизовая кислота, АФК – активные формы кислорода, ЖК – жасмоновая кислота, МАРК – митоген-активируемая протеинкиназа, МАРКК – МАР-киназа киназы, МАРККК – МАР-киназа-киназа киназы, МТ – металлотионеины, СК – салициловая кислота, ТФ – транскрипционный фактор, ФХ – фитохелатины, ФХС – фитохелатинсинтаза, СаМ – кальмодулин, NO – оксид азота

Таким образом, имеющиеся пока еще немногочисленные данные указывают на возможность непрямого действия тяжелых металлов на растения через индукцию сигнальных путей с участием различных сигнальных молекул, которые передают стрессовый сигнал на МАР-киназный каскад (DalCorso et al., 2010) и могут выступать посредниками в других сигнальных системах (рис. 39). При этом разные пути трансдукции сигнала могут взаимодействовать, приводя к повышению устойчивости не только к действию тяжелых металлов, но и к ряду других стресс-факторов.

### 4.3. Активация MAP-киназного каскада

Одним из наиболее распространенных путей передачи внешнего сигнала, в том числе о действии тяжелых металлов, в клетке эукариот является каскад реакций фосфорилирования митоген-активируемых протеинкиназ (Mitogen Activated Protein Kinase) – MAP-киназный каскад фосфорилирования, включающий в себя три последовательно действующие сериновые/треониновые протеинкиназы (Jonak et al., 2002; Šamajová et al., 2013). Присоединение фосфата приводит к изменению структуры белковой молекулы и ее функциональной активности. Активированная протеинкиназа переносит фосфатную группу с АТФ на белки, которые активируют другие ферменты. Биологический смысл этой цепи заключается в том, что усиливается первичный сигнал, вследствие чего включается синтез белков-мишеней.

При этом происходит последовательное фосфорилирование трех протеинкиназ: MAPKKK (MAP-киназа-киназа киназы) передает фосфорный остаток киназе MAPKK (MAP-киназа киназы), которая затем фосфорилирует MAPK (MAP-киназу) (DalCorso et al., 2010; Gallego et al., 2012). MAPK перемещается в ядро, где активирует другие протеинкиназы и транскрипционные факторы (DalCorso et al., 2010). Таким образом, MAP-киназный каскад является важным механизмом трансдукции сигнала о воздействии тяжелых металлов у растений.

Установлено, что растения имеют довольно большое число компонентов MAP-каскада, например, у *A. thaliana* он включает более 20 MAPK, 10 MAPKK и 60 MAPKKK (MAPK Group, 2002).

Активация MAP-киназного каскада в сигналинге тяжелых металлов, в частности кадмия, в настоящее время хорошо изучена у млекопитающих (Thévenod, 2009). В отношении растений имеется лишь очень ограниченная информация, касающаяся активации MAP-киназного каскада некоторыми тяжелыми металлами –  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$  (Gallego et al., 2012; Thapa et al., 2012). Показано, что на действие тяжелых металлов растения отвечают индукцией разных MAPK-путей (табл. 18). Например, у *A. thaliana* кадмий активировал протеинкиназы MPK3, MPK6 (Liu et al., 2010) и AtMEKK1 (Suzuki et al., 2001). У растений люцерны (*Medicago*

*sativa*) избыток ионов меди и кадмия активирует четыре MAPK: SIMK (salt stress-induced MAPK), MMK2 (*Medicago* MAPKK), MMK3 (*Medicago* MAPKKK) и SAMK (stress-activated MAPK) (Jonak et al., 2004). Кроме того, медь в отличие от кадмия активировала SIMKK (Jonak et al., 2004). Причем активация SIMK, MMK2, MMK3, SAMK у растений люцерны под влиянием ионов меди происходила значительно быстрее, чем при действии кадмия (Jonak et al., 2004). Это может быть связано с тем, что кадмий вызывает окислительный стресс как вторичный эффект, который, в свою очередь, влияет на каскад фосфорилирования (Jonak et al., 2004).

Таблица 18. Гены MAP-киназ, участвующих в сигналинге тяжелых металлов у растений

MAP-киназа	Ген	Металл	Вид растения	Источник
MAPKKK	<i>AtMEKK1</i>	Cd <sup>2+</sup>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Suzuki et al., 2001
	<i>OsEDR1</i> <i>ANP1</i>	Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup> Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	<i>Oryza sativa</i> <i>Arabidopsis thaliana</i>	Kim et al., 2003 Lin, Aarts, 2012
MAPKK	<i>MKK4/MKK5</i> , <i>MKK1/MKK2</i> , <i>MKK3</i>	Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Lin, Aarts, 2012
MAPK	<i>OsMSRMK2</i> , <i>OsBWMK1</i> <i>OsMAPK2</i> <i>SIMK</i> , <i>SAMK</i> , <i>MMK2</i> , <i>MMK3</i> <i>MPK3</i> , <i>MPK6</i>	Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup>  Cd <sup>2+</sup> Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> Cd <sup>2+</sup>	<i>Oryza sativa</i>  <i>Oryza sativa</i> <i>Medicago sativa</i> <i>Arabidopsis thaliana</i>	Agrawal et al., 2003  Yeh et al., 2004 Jonak et al., 2004 Liu et al., 2010
	<i>MAP</i> <i>MBP</i> <i>ZnNPK5</i>	Pb <sup>2+</sup> Zn <sup>2+</sup> Cr <sup>2+</sup>	<i>Oryza sativa</i> <i>Oryza sativa</i> <i>Zea mays</i>	Huang, Huang, 2008 Lin et al., 2005 Ding et al., 2009

В начальный период действия кадмия в корнях риса усиливается экспрессия генов, кодирующих MAPK (Ogawa et al., 2009). Кроме того, у проростков риса под влиянием кадмия отмечено накопление транскриптов *OsMAPK2* (Yeh et al., 2004) и меди (Hung et al., 2005).

Мишенями MAP-киназного сигналинга, индуцированного действием тяжелых металлов, в частности кадмия, являются транскрипционные факторы нескольких семейств (Opdenakker et al.,

2012). Следовательно, активация каскада фосфорилирования протеинкиназ, индуцированная кальций-кальмодулиновой системой, АФК сигналингом, оксидом азота и стрессовыми гормонами, участвует в регуляции синтеза транскрипционных факторов.

Таким образом, процесс трансдукции сигнала о действии тяжелых металлов на растение по различным сигнальным путям в конечном итоге обеспечивает регуляцию синтеза транскрипционных факторов, которые, в свою очередь, активируют экспрессию генов, ответственных за синтез белков, участвующих в процессах адаптации растений к тяжелым металлам и их детоксикации.

#### **4.4. Активация транскрипционных факторов**

На последнем этапе передачи сигнала происходит изменение активности транскрипционных факторов и, как следствие, изменение уровня экспрессии различных генов, участвующих в ответе растений на действие стрессора. Каждый конкретный сигнал, активируя свой путь сигнальной трансдукции, влияет на активность определенных групп транскрипционных факторов.

Транскрипционные факторы – это белки, контролирующие процесс синтеза мРНК на матрице ДНК путем связывания со специфическими участками ДНК (Патрушев, 2000), благодаря чему они играют важную роль в инициации программы повышения или снижения уровня транскрипции тех или иных генов. Характерная особенность факторов транскрипции – наличие в их составе ДНК-связывающего домена, который обладает способностью связываться со специфическими участками ДНК, расположенными в регуляторных областях генов, а также домена активации или репрессии транскрипции (Vaahtera, Brosché, 2011). В настоящее время в геноме *Arabidopsis* выделено и описано более двух тысяч транскрипционных факторов, что составляют около 7 % от общего числа генов (Mitsuda, Ohme-Takagi, 2009).

В последние годы появляются сведения о роли транскрипционных факторов в регуляции транскрипции генов, индуцируемых действием тяжелых металлов (Fusco et al., 2005), однако эти данные неоднозначны, а порой и противоречивы. Одна из возможных причин сложности изучения роли транскрипционных факторов в

защитно-приспособительных реакциях растений на действие тяжелых металлов связана с их включением в сигнальные пути, индуцируемые действием и других абиотических и биотических факторов, а также фитогормонов (Singh et al., 2002).

В настоящее время идентифицировано довольно много транскрипционных факторов, участвующих в ответе растений на действие кадмия (Fusco et al., 2005; Kovalchuk et al., 2005; van de Mortel et al., 2008). Эти транскрипционные факторы принадлежат к различным семействам, таким как WRKY (Wei et al., 2008b), basic leucine zipper proteins (bZIP) (Jacoby et al., 2002), ethylene-responsive factor (ERF) (Tang et al., 2005), myeloblastosis protein (MYB) (van de Mortel et al., 2008), играющим важную роль в контроле экспрессии генов (табл. 19).

Таблица 19. Транскрипционные факторы (ТФ), участвующие в сигналинге тяжелых металлов у растений

Семейство ТФ	ТФ	Вид растения	Металл	Источник
AP2/EREBP	ERF1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Weber et al., 2006
	ERF2	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Weber et al., 2006
	CaPF1	<i>Pinus virginiana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Tang et al., 2005
	DREB2A	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Suzuki et al., 2001
	LbDREB	<i>Limonium bicolor</i>	Cu <sup>2+</sup>	Ban et al., 2011
	OsDREB1A	<i>Oryza sativa</i>	Cd <sup>2+</sup>	Ogawa et al., 2009
	OsDREB1B	<i>Oryza sativa</i>	Cd <sup>2+</sup>	Ogawa et al., 2009
	bZIP	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Suzuki et al., 2001
bZIP	bZIP	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Suzuki et al., 2001
	TGA3	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Farinati et al., 2010
MYB	MYB4	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Van de Mortel et al., 2008
	MYB10	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Van de Mortel et al., 2008
	MYB72	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Van de Mortel et al., 2008
	MYB43	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Weber et al., 2006
	MYB48	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Weber et al., 2006
	MYB124	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Weber et al., 2006
	bHLH	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Van de Mortel et al., 2008
	bHLH100	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Van de Mortel et al., 2008
WRKY	WRKY59	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	Van de Mortel et al., 2008
	WRKY71	<i>Oryza sativa</i>	Cd <sup>2+</sup>	Ogawa et al., 2009
C2H2(Zn)	C2H2(Zn)	<i>Oryza sativa</i>	Cd <sup>2+</sup>	Ogawa et al., 2009
HSF	HSFB3	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cd <sup>2+</sup>	Sarry et al., 2006

**APETALA2** (*ethylene-responsive-element-binding protein*) (AP2/EREBP) семейство транскрипционных факторов. Представители этого семейства содержат консервативный ДНК-связывающий домен AP2/EREBP, имеющий 2 повтора из 68 аминокислотных остатков (Weber et al., 2006). В это семейство транскрипционных факторов входят два подсемейства – ERF (EREBP) и DREB (DRE-binding factor)/CBF (CRT/DRE binding factor) (Singh et al., 2002). Представители подсемейства ERF участвуют в сигналинге этилена, а также включены в ответ растений на различные биотические и абиотические стресс-факторы. Транскрипционные факторы подсемейства DREB/CBF способны активировать ряд индуцируемых обезвоживанием генов-мишеней, повышая уровень их транскрипции за счет связывания с DRE/CRT элементом (dehydration-responsive element/ C-repeat), расположенным в промоторном участке.

Установлено, что кадмий регулирует накопление белков подсемейства ERF. В частности, экспрессия кодирующих их генов *ERF1*, *ERF2* и *ERF5* индуцируется в корнях *A. thaliana* при действии кадмия в течение 2 ч (Weber et al., 2006). Другими авторами также выявлена индукция *ERF1* и *ERF5* у *A. thaliana* под влиянием этого металла (Herbette et al., 2006).

Наряду с этим, кадмий активирует транскрипцию *DREB2A* у растений риса (Suzuki et al., 2001). В экспериментах с проростками пшеницы наблюдали увеличение содержания транскриптов генов *DREB1* и *CBF1* в листьях уже через 15 мин от начала действия сульфата кадмия (100 мкМ), которое сохранялось на повышенном уровне на протяжении 7 сут (Репкина и др., 2012). Отметим, что в корнях риса экспрессия генов транскрипционных факторов *OsDREB1A* и *OsDREB1B* усиливалась через 3 ч от начала действия  $\text{CdCl}_2$  (10 мкМ) (Ogawa et al., 2009). В отличие от этого, у галофита *Limonium bicolor* под влиянием  $\text{CdCl}_2$  и  $\text{CuSO}_4$  в более высокой концентрации (150 мкМ) происходило снижение содержания транскриптов гена *LbDREB* в листьях и корнях растений (Ban et al., 2011).

**MYB** (*MYeloBlastosis protein*). MYB-белки – самое многочисленное семейство транскрипционных факторов. ДНК-связывающий домен MYB-белков содержит 1–3 повтора приблизительно из 50 аминокислот.

Установлено, что кадмий и цинк повышают экспрессию генов, кодирующих факторы транскрипции MYB4, MYB10, MYB72 семейства MYB, у растений *A. thaliana* (Van de Mortel et al., 2008). При этом увеличение содержания транскриптов гена *MYB72* под влиянием кадмия и цинка отмечено в листьях, но не в корнях арабидопсиса (Van de Mortel et al., 2008). Кадмий также специфически индуцировал белки MYB43, MYB48 и MYB124 в корнях *A. thaliana* (Weber et al., 2006). Кроме того, обнаружено, что кадмий индуцирует экспрессию нескольких генов семейства MYB в корнях риса уже в начальный период своего действия (Ogawa et al., 2009).

**bHLH-белки** (*basic helix-loop-helix*) – транскрипционные факторы, содержащие ДНК-связывающий домен типа «спираль – петля – спираль». Показано, что под влиянием кадмия и цинка в корнях и листьях *A. thaliana* происходит накопление транскриптов гена *bHLH100*, относящегося к семейству генов, кодирующих транскрипционные факторы bHLH (Van de Mortel et al., 2008).

Транскрипционные факторы **WRKY** содержат WRKY-домены, состоящие из 60 аминокислотных остатков, в которые входит консервативная последовательность аминокислот WRKYGQK на N-конце молекулы. Транскрипционные факторы данного семейства способны связываться с последовательностью W-box в промоторной области многих генов, например, *PR*-генов (*pathogen related*), кодирующих защитные белки, которые принимают участие в механизмах устойчивости растений как к биотическим, так и к абиотическим факторам (засолению, холоду, засухе), включая тяжелые металлы (Wei et al., 2008).

Интересно, что кадмий уже в начальный период действия индуцировал у *A. thaliana* экспрессию гена *WRKY59* (Van de Mortel et al., 2008), а у риса – гена *WRKY71* (Ogawa et al., 2009).

**bZIP** (*basic leucine zipper proteins*) – семейство транскрипционных факторов с ДНК-связывающим доменом типа «лейциновая застежка-молния». Этот транскрипционный фактор содержит высококонсервативный bZIP домен, состоящий из основного домена, ответственного за связывание с ДНК-специфической последовательностью, и домена «лейциновая застежка» (Liao et al., 2008). Транскрипционные факторы bZIP обнаружены у многих видов растений и участвуют в различных физиологических процессах, в том числе в ответных реакциях растений на действие стресс-факторов (Zou et al., 2008).



Представителем этого семейства транскрипционных факторов, экспрессия которых активируется кадмием, является OBF5. Данные о его экспрессии получены, в частности, на растениях риса (Suzuki et al., 2001). У *A. thaliana* кадмий также усиливает экспрессию гена транскрипционного фактора OBF5, который связывается с промоторными участками гена GST (фермента, участвующего в детоксикации ксенобиотиков и обезвреживании АФК), индуцируемого также салициловой кислотой и ауксином (Qi et al., 2007).

Установлено, что другой транскрипционный фактор семейства bZIP – TGA3 – также индуцируется краткосрочным действием кадмия на растения *A. thaliana* (Farinati et al., 2010). Этот транскрипционный фактор контролирует экспрессию генов нескольких транспортеров металлов, а его сверхэкспрессия у *A. thaliana* и табака повышает устойчивость растений к кадмию и его аккумуляцию в побеге (Farinati et al., 2010).

Отметим, что экспрессия генов факторов транскрипции bZIP усиливается при воздействии  $Cd^{2+}$  в корнях, листьях и стебле трансгенных растений табака, содержащих ген *ThbZIP1* галофита *Tamarix hispida* (Wang et al., 2010).

**C2H2(Zn)-белки** – транскрипционные факторы, содержащие «цинковые пальцы». Экспрессия генов «цинковых пальцев», содержащих C2H2(Zn) домены, отмечена в корнях *A. thaliana* при действии кадмия (Weber et al., 2006).

Активация транскрипционных факторов и последующее взаимодействие с промоторным участком определенного гена приводит к изменению уровня и характера экспрессии (индукции или репрессии), а в крайних случаях – к «включению» некоторых молчаливых или «выключению» активных генов. Таким образом, транскрипционные факторы могут регулировать транскрипцию генов защитных систем клетки. Репрограммирование экспрессии совокупности генов вызывает изменение соотношения белков в клетке, являющееся основой ее функционального ответа. В частности, при действии тяжелых металлов под влиянием транскрипционных факторов происходит активация экспрессии генов, кодирующих белки, участвующие как во внутриклеточном, так и в дальнейшем транспорте тяжелых металлов по растению. Наряду с этим, они регулируют экспрессию различных групп генов, продукты которых

участвуют в детоксикации тяжелых металлов (Suzuki et al., 2001; DalCorso et al., 2010; Ban et al., 2011) (рис. 40).



Рис. 40. Общая схема сигналинга тяжелых металлов у растений (по: Maksymiec, 2007; DalCorso et al., 2010; Gallego et al., 2012; Sytar et al., 2013):

АБК – абсцизовая кислота, АФК – активные формы кислорода, БС – brassinosteroids, ЖК – жасмоновая кислота, МАРК – митоген-активируемая протеинкиназа, CDPK – кальций-зависимая протеинкиназа, СК – салициловая кислота, AP2 – APETALA2 (ethylene-responsive-element-binding protein), bHLH – basic helix-loop-helix, bZIP – basic leucine zipper proteins, MYB – MYeloBlastosis protein, NO – оксид азота. Гены: GS – глутатионсинтазы, PCS – фитохелатинсинтазы, MT – металлотионеины, HMA – heavy metal ATPase, CAX – cation/proton exchanger, MTP – metal tolerance protein, SOD – супероксиддисмутазы, CAT – каталазы, APX – аскорбатпероксидазы, GR – глутатионредуктазы, HSP – БТШ

Активация транскрипционных факторов, принадлежащих к различным семействам, указывает на значительную сложность и комплексность ответа растений на действие тяжелых металлов, от восприятия сигнала до внутриклеточного каскада трансдукции, включающих активацию генов, ответственных за поглощение тяжелых металлов, транспорт и детоксикацию. Транскрипционные факторы разных семейств взаимодействуют с консервативными последовательностями в промоторных участках многих генов, активируя или подавляя их транскрипцию. Однако следует подчеркнуть, что в настоящее время исследования, посвященные сигналингу, вызванному действием тяжелых металлов, все еще очень немногочисленны и, по сути, находятся на начальном этапе. Поэтому представления о путях передачи стрессорного сигнала и особенностях их функционирования в условиях действия того или иного тяжелого металла по-прежнему носят фрагментарный характер и требуют дальнейшего расширения и углубления.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Влияние тяжелых металлов на растения изучается исследователями разных стран на протяжении уже нескольких десятилетий. Значительное число публикаций, особенно появившихся в последние годы, свидетельствует о большом и по-прежнему неослабевающем интересе к этой теме. Целью настоящей монографии явилась попытка систематизировать накопленные к настоящему моменту многочисленные, порой противоречивые данные, касающиеся главным образом механизмов поступления и транспорта тяжелых металлов в растениях, а также механизмов устойчивости растений к высоким концентрациям этих элементов в окружающей среде.

Проведенный нами анализ литературы показывает, что среди многочисленных и разноплановых исследований в рамках данной темы можно выделить около двух десятков различных направлений, по которым в настоящее время наиболее активно ведутся поиски. В частности, большое внимание уделяется изучению влияния тяжелых металлов на основные физиологические процессы и продуктивность растений, исследованию механизмов металлоустойчивости растений, действующих на разных уровнях организации, особенно на клеточном и молекулярном, и механизмам поглощения тяжелых металлов корнем и их транспорту по растению. Кроме того, достаточно большое количество исследований посвящено изучению накопления и распределения тяжелых металлов в органах растений, употребляемых в пищу. Причем значительная часть проводимых в последние 10–15 лет экспериментов затрагивают молекулярно-генетический уровень.

Многочисленные литературные данные и результаты наших собственных исследований говорят о том, что тяжелые металлы вызывают у растений большое количество разнообразных измене-

ний, в том числе в протекании физиологических процессов. Например, в высоких концентрациях они вызывают хлороз листьев и снижение содержания фотосинтетических пигментов, ингибируют отдельные фотосинтетические реакции, тем самым тормозя в целом процесс фотосинтеза. Оказывая негативное влияние на устьичный аппарат и интенсивность транспирации, тяжелые металлы нарушают водный обмен растений. При повышении их содержания в органах растений до концентраций, близких к пороговым, замедляется дыхание. Эти и многие другие изменения физиологических процессов сопровождаются торможением роста и развития растений и приводят в конечном счете к значительному снижению их продуктивности, а во многих случаях к еще более серьезным последствиям, включая гибель растений.

Однако в процессе эволюции растения выработали сложную систему механизмов для торможения поступления избыточных количеств тяжелых металлов в растения, а также для снижения их токсического воздействия, что обеспечивает их выживание в неблагоприятных для роста условиях.

На основании анализа литературы можно сделать вывод о наличии у растений нескольких «линий защиты», которые обеспечивают им возможность произрастать в условиях повышенных концентраций тяжелых металлов в окружающей среде. Первая «линия защиты» представляет собой связывание токсичных ионов в ризосфере, осуществляемое микроорганизмами (взаимодействующими с растениями), корневыми выделениями растений, возможно также участие в этом процессе микоризных грибов. Вторую «линию защиты» образуют клеточная стенка и плазмалемма, которые, с одной стороны, задерживают поступление катионов тяжелых металлов в клетку, а с другой – способствуют выведению их избытка из клетки. В том случае, когда тяжелые металлы, несмотря на работу указанных защитных механизмов, все-таки поступают в цитоплазму клетки, решающую роль берет на себя третья «линия защиты», включающая разнообразные внутриклеточные механизмы детоксикации тяжелых металлов. Таким образом, общая система «защиты» растений от воздействия токсичных концентраций тяжелых металлов является многоэшелонной и многокомпонентной, что делает ее весьма эффективной.

Особо следует отметить, что за последние 10–15 лет исследователям удалось добиться значительного прогресса в изучении молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе защитно-приспособительных реакций растений на действие тяжелых металлов. В частности, выделены белки, участвующие в транспорте тяжелых металлов через мембраны клетки (плазмалемму и тонопласт), а также в дальнем транспорте их ионов по растению, выявлена их локализация и изучена экспрессия соответствующих им генов. Доказано непосредственное участие целого ряда соединений (органические кислоты, аминокислоты, глутатион, фитохелатины, металлотионеины) в связывании ионов тяжелых металлов в клетке с образованием комплексов, которые в гораздо меньшей степени опасны для растения, чем свободные ионы. Выявлены гены, участвующие в синтезе этих соединений, и исследовано влияние тяжелых металлов на их экспрессию.

Установлено, что на клеточном уровне одним из ключевых моментов в процессе адаптации растений к повышению уровня тяжелых металлов в окружающей среде является интенсификация деятельности антиоксидантной системы. Подвижное равновесие между образованием АФК и активностью антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных соединений – неотъемлемая часть механизмов металлоустойчивости растений. Однако повышенный интерес к изучению влияния тяжелых металлов на формирование АФК связан еще и с двойственной ролью этих молекул. С одной стороны, усиленное образование АФК приводит к окислительному стрессу, что негативно отражается на всех физиологических процессах растений, а с другой – АФК являются сигнальными молекулами, участвующими в запуске адаптационных механизмов.

Однако, несмотря на значительные успехи в изучении металлоустойчивости, до сих пор существует немало вопросов, которые требуют проведения специальных исследований. Например, пока нет четкого понимания механизмов восприятия и передачи сигнала у растений при действии на них тяжелых металлов. В частности, не известны рецепторы, воспринимающие сигнал о повышении уровня тяжелых металлов в пространстве вокруг клетки, до конца не определена схема передачи сигнала, в ответ на который экспрессируются конкретные гены, слабо изучено и участие гор-

монов в передаче стрессового сигнала. Поиск ответов на эти и многие другие вопросы безусловно будет способствовать более глубокому пониманию механизмов устойчивости растений к тяжелым металлам.

Следует также указать, что неослабевающий интерес к проблеме устойчивости растений к тяжелым металлам связан не только с ее научной актуальностью, но и с практической значимостью такого рода исследований. В частности, с созданием трансгенных растений, характеризующихся повышенной устойчивостью к этому виду стрессового воздействия, возникает перспектива их использования, наряду с видами-гипераккумуляторами, в целях фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами. Можно также надеяться, что всестороннее изучение механизмов транспорта тяжелых металлов от корня до семени позволит в будущем регулировать поступление необходимых и токсичных элементов в надземные органы и семена (плоды), обеспечивая тем самым получение качественной сельскохозяйственной продукции, отвечающей самым высоким экологическим стандартам.

Наконец, нельзя не сказать, что значительный прогресс, который достигнут за последние годы в изучении устойчивости растений к тяжелым металлам, мог бы быть еще большим, если бы удалось преодолеть определенную разрозненность усилий разных исследователей и исследовательских групп и те различия, которые существуют в постановке и проведении экспериментов (разные авторы работают с разными объектами, используют разные методы, изучают действие разных видов тяжелых металлов и разные их концентрации). Это безусловно снижает эффективность проводимых исследований, затрудняет сопоставительный анализ их результатов и усложняет перспективное планирование. Поэтому представляется весьма важным усилить, насколько это возможно, координацию этих исследований, особенно в части выбора объектов, определения их целей и задач, разработки единых методических подходов. Подобная консолидация усилий и возможностей разных научных коллективов способствовала бы более быстрому решению многих вопросов, ответы на которые крайне важны с точки зрения понимания фундаментальных основ устойчивости растений к тяжелым металлам.

## ЛИТЕРАТУРА

*Алексеев Ю. В.* Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л.: Агропромиздат, 1987. 142 с.

*Алексеев Ю. В.* Тяжелые металлы в агроландшафте. СПб.: ПИЯФ РАН, 2008. 216 с.

*Алехина Н. Д., Харитонашвили Е. В.* Минеральное питание // Физиология растений: Учебник для студ. вузов / Под ред. И. П. Ермакова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 640 с.

*Багаева Т. В., Ионова Н. Э., Надеева Г. В.* Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов. Казань: Казанский ун-т, 2013. 56 с.

*Батова Ю. В., Лайдинен Г. Ф., Казнина Н. М., Титов А. Ф.* Влияние загрязнения кадмием на рост и семенную продуктивность однолетних злаков // Агрохимия. 2012. № 6. С. 79–83.

*Башкин В. Н., Касимов Н. С.* Биогеохимия М.: Научный мир, 2004. 648 с.

*Баимаков Д. И., Лукаткин А. С.* Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений. Саранск: Мордов. ун-т, 2009. 236 с.

*Белимов А. А., Тихонович И. А.* Микробиологические аспекты устойчивости и аккумуляции тяжелых металлов у растений (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 3. С. 10–15.

*Белимов А. А., Кунакова А. М., Сафронова В. И. и др.* Использование ассоциативных бактерий для инокуляции ячменя в условиях загрязнения почвы свинцом и кадмием // Микробиология. 2004. Т. 73. С. 118–125.

*Бессонова В. П.* Клеточный анализ роста корней *Lathyrus odoratus* L. при действии тяжелых металлов // Цитология и генетика. 1991. Т. 25, № 5. С. 18–22.

*Богдановский Г. А.* Химическая экология. М.: МГУ, 1994. 237 с.

*Гарифзянов А. Р., Жуков Н. Н., Иванищев В. В.* Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений // Современные проблемы науки и образования. 2011. № 2. URL: [www.science-education.ru/96-4600](http://www.science-education.ru/96-4600).



Гришко В. Н., Сыщиков Д. В. Функционирование глутатионзависимой антиоксидантной системы и устойчивость растений при действии тяжелых металлов и фтора. Киев: Наук. думка, 2012. 238 с.

Данилин И. А. Металлотионеины как биомаркеры при действии на организмы тяжелых металлов и ионизирующего излучения: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2010. 45 с.

Демченко Н. П., Калимова И. Б., Демченко К. Н. Влияние никеля на рост, пролиферацию и дифференциацию клеток корневой меристемы проростков *Triticum aestivum* // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 2. С. 250–258.

Дмитрюкова М. Ю., Баймиев А. Х., Рахманкулова З. Ф. Влияние кадмия на рост и дыхание растений табака с геном леггемоглобина а сои // Агрохимия. 2011. № 10. С. 70–75.

Добровольский В. В. География микроэлементов. Глобальное рассеивание. М.: Мысль, 1983. 272 с.

Добровольский В. В. Основные черты геохимии цинка и кадмия // Цинк и кадмий в окружающей среде. М.: Наука, 1992. С. 7–18.

Добровольский В. В. Глобальная система массопотоков тяжелых металлов в биосфере // Рассеянные элементы в бореальных лесах. М.: Наука, 2004. С. 23–30.

Довгалюк А. И., Калиняк Т. Б., Блюм Я. Б. Цитогенетические эффекты солей токсичных металлов в клетках апикальной меристемы корней проростков *Allium cepa* L. // Цитология и генетика. 2001. Т. 35, № 2. С. 3–10.

Ершова А. Н., Попова Н. В., Бердникова О. С. Продукция активных форм кислорода и антиоксидантные ферменты растений гороха и сои при гипоксии и высоком содержании CO<sub>2</sub> в среде // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 6. С. 834–843.

Иванов В. Б., Быстрова Е. И., Серегин И. В. Сравнение влияния тяжелых металлов на рост корня в связи с проблемой специфичности и избирательности их действия // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 3. С. 445–454.

Иванова Е. М. Токсическое действие меди и механизмы ее детоксикации: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2011. 26 с.

Ильин В. Б. Тяжелые металлы в системе почва – растение. Новосибирск: Наука, 1991. 150 с.

Ильин В. Б. Тяжелые металлы и неметаллы в системе почва – растение. Новосибирск: СО РАН, 2012. 220 с.

Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 440 с.

Казнина Н. М. Влияние свинца и кадмия на рост, развитие и некоторые другие физиологические процессы однолетних злаков (ранние этапы онтогенеза): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 2003. 23 с.

Казнина Н. М., Титов А. Ф. Влияние кадмия на физиологические процессы и продуктивность растений семейства Роасеае // Успехи соврем. биологии. 2013. Т. 133, № 6. С. 588–603.

Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф., Титов А. Ф. Влияние кадмия на апикальные меристемы стебля растений ячменя // Онтогенез. 2006. Т. 37, № 6. С. 444–448.

Казнина Н. М., Титов А. Ф., Лайдинен Г. Ф., Таланов А. В. Устойчивость щетинника к повышенным концентрациям цинка // Известия РАН. Серия биологическая. 2009. № 6. С. 677–684.

Казнина Н. М., Титов А. Ф., Лайдинен Г. Ф., Батова Ю. В. Влияние кадмия на некоторые физиологические показатели растений ячменя в зависимости от их возраста // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. 2010. № 2. С. 27–31.

Казнина Н. М., Титов А. Ф., Лайдинен Г. Ф., Батова Ю. В. Влияние кадмия на водный обмен растений ячменя // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. 2011. № 3. С. 57–61.

Казнина Н. М., Титов А. Ф., Топчиева Л. В. и др. Влияние возрастных различий на реакцию растений ячменя на действие кадмия // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 1. С. 74–79.

Казнина Н. М., Титов А. Ф., Топчиева Л. В. и др. Влияние кадмия на экспрессию гена *HvSAX2* в корнях проростков ячменя // Тез. докл. Всерос. науч. конф. с междунар. участием «Инновационные направления современной физиологии растений». Годичное собрание ОФР. 2–6 июня 2013 г. М., 2013а. С. 278.

Казнина Н. М., Титов А. Ф., Топчиева Л. В. и др. Экспрессия генов вакуолярной  $H^+$ -АТФазы в корнях проростков ячменя разного возраста при действии кадмия // Физиология растений. 2013б. Т. 60, № 1. С. 61–65.

Казнина Н. М., Титов А. Ф., Батова Ю. В. Содержание непротеиновых тиолов в клетках корня дикорастущих многолетних злаков при действии кадмия и свинца // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. 2014а. № 5. С. 182–187.

Казнина Н. М., Титов А. Ф., Топчиева Л. В. и др. Содержание транскриптов генов *HvHMA2* и *HvHMA3* у растений ячменя при действии кадмия // Физиология растений. 2014б. Т. 63, № 3. С. 384–388.

Кения М. В., Лукаш А. И., Гуськов Е. П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи соврем. биологии. 1993. Т. 113, № 4. С. 456–470.

Клаус А. А., Лысенко Е. А., Холодова В. П. Рост растений кукурузы и накопление фотосинтетических пигментов при кратко- и долгосрочном воздействии кадмия // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 2. С. 246–256.

Кожанова О. Н., Дмитриева А. Г. Физиологическая роль металлов в жизнедеятельности растительных организмов // Физиология растительных организмов и роль металлов. М.: МГУ, 1989. С. 7–55.

Колупаев Ю. Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вестн. Харьковского нац. аграрн. ун-та. Сер. Биология. 2007. Вып. 3. С. 6–26.

Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Киев: Основа, 2010. 352 с.

Косицин А. В., Алексеева-Попова Н. В. Действие тяжелых металлов на растения и механизмы металлоустойчивости // Растения в экстремальных условиях минерального питания. Л.: Наука, 1983. С. 5–22.

Креславский В. Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С. И., Кузнецов Вл. В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 2. С. 163–178.

Кузнецов Вл. В., Дмитриева Г. А. Физиология растений: Учебник. М.: Высшая школа, 2006. 742 с.

Кузнецова Т. Ю., Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Ильинова М. К. Влияние кадмия на состав жирных кислот липидов в побегах карельской березы *in vitro* // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 5. С. 731–737.

Лайдинен Г. Ф., Казнина Н. М., Батова Ю. В., Титов А. Ф. Способность к накоплению кадмия у *Bromopsis inermis* и *Setaria viridis* (Poaceae) // Раст. ресурсы. 2011. Вып. 3. С. 64–72.

Лутова Л. А., Ежова Т. А., Додуева И. Е., Осипова М. А. Генетика развития растений: Для биологических специальностей университетов. СПб.: Изд-во Н-Л, 2010. 432 с.

Лянгузова И. В. Влияние никеля и меди на прорастание семян и формирование проростков черники // Физиология растений. 1999. Т. 46, № 3. С. 500–502.

Мейчик Н. Р. Ионный обмен и диффузия в клеточных стенках растений: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2007. 48 с.

Мейчик Н. Р., Ермаков И. П., Прокопцева О. С. Диффузия органического катиона в клеточных стенках корня // Биохимия. 2003. Т. 68, № 1. С. 926–940.

Мейчик Н. Р., Николаева Ю. И., Комарынец О. В., Ермаков И. П. Барьерная функция клеточной стенки при поглощении ионов никеля // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 3. С. 345–350.

Мерзляк М. Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Соросовский образовательный журнал. 1999. № 9. С. 20–26.

Никифорова Е. М. Биогеохимическая оценка загрязнения тяжелыми металлами агроландшафтов Восточного Подмосквья // Геохимическая

экология и биогеохимическое изучение таксонов биосферы. М.: Наука, 2003. С. 108–109.

*Патрушев Л. И.* Экспрессия генов. М.: Наука, 2000. 830 с.

*Полесская О. Г.* Растительная клетка и активные формы кислорода: Учебное пособие. М.: КДУ, 2007. 140 с.

*Прадедова Е. В., Ишеева О. Д., Саяев Р. К.* Ферменты антиоксидантной защиты вакуолей корнеплодов столовой свеклы // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 1. С. 40–48.

*Радюкина Н. Л., Шашукова А. В., Шевякова Н. И., Кузнецов Вл. В.* Участие пролина в системе оксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и параквата // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 5. С. 721–730.

*Рахманкулова З. Ф., Федяев В. В., Абдулина О. А., Усманов И. Ю.* Формирование адаптационных механизмов у пшеницы и кукурузы к повышенному содержанию цинка // Вестник Башкирского ун-та. 2008. Т. 13, № 1. С. 43–46.

*Репкина Н. С., Таланова В. В., Топчиева Л. В. и др.* Влияние кадмия на экспрессию генов транскрипционных факторов CBF1 и DREB1 в листьях проростков пшеницы // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. 2012. № 2. С. 113–118.

*Розенцвет О. А., Богданова Е. С., Мурзаева С. В.* Состав липидов и жирных кислот в листьях папоротника *Matteuccia struthiopteris*, формирующихся под влиянием кадмия // Тр. КарНЦ РАН. 2011. № 3. С. 97–104.

*Садрниа М., Жардецкий С. С., Храмова Е. А., Максимова Н. П.* Роль бактериальной АЦК-деминазы в повышении устойчивости растений к стрессовым факторам среды // Вестник БГУ. Сер. 2. 2011. № 2. С. 62–66.

*Сазанова К. А., Башмаков Д. И., Лукаткин А. С.* Генерация супероксидного анион-радикала в листьях растений при хроническом действии тяжелых металлов // Тр. КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. 2012. № 2. С. 119–124.

*Серегин И. В.* Фитохелатины и их роль в детоксикации кадмия у высших растений // Усп. биол. химии. 2001. Т. 41. 283–300.

*Серегин И. В.* Распределение тяжелых металлов в растениях и их действие на рост: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2009. 53 с.

*Серегин И. В., Иванов В. Б.* Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 4. С. 606–630.

*Серегин И. В., Кожевникова А. Д.* Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения // Физиология растений. 2006. Т. 53, № 2. С. 285–308.

Сливинская Р. Б. Нарушение водного баланса растений под действием тяжелых металлов // II съезд ВОФР. М., 1992. С. 195.

Сычигов Д. В. Изменение концентрации восстановленной формы глутатиона у проростков гороха при действии на них ионов Cd и Ni // Укр. биохим. журн. 2002. Т. 74, № 45. С. 140–141.

Сычигов Д. В. Фитохелатины: структура, биосинтез, функции // Вестн. Харьковского нац. аграр. ун-та. Сер. Биология. 2007. Вып. 2 (11). С. 6–17.

Таланова В. В., Титов А. Ф., Боева Н. П. Влияние ионов кадмия и свинца на рост и содержание пролина и АБК в проростках огурца // Физиология растений. 1999. Т. 46, № 1. С. 119–123.

Таланова В. В., Титов А. Ф., Боева Н. П. Влияние возрастающих концентраций тяжелых металлов на рост проростков ячменя и пшеницы // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 1. С. 119–123.

Титов А. Ф., Таланова В. В. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. 206 с.

Титов А. Ф., Лайдинен Г. Ф., Казнина Н. М. Влияние ионов свинца на рост и морфофизиологические показатели растений ячменя и овса // Физиология и биохимия культ. растений. 2001. Т. 33, № 5. С. 387–393.

Титов А. Ф., Лайдинен Г. Ф., Казнина Н. М. Влияние высоких концентраций кадмия на рост и развитие ячменя и овса на ранних этапах онтогенеза // Агрохимия. 2002. № 9. С. 61–65.

Титов А. Ф., Таланова В. В., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 170 с.

Холодова В. П., Волков К. С., Кузнецов Вл. В. Адаптация к высоким концентрациям солей меди и цинка растений хрустальной травки и возможность их использования в целях фиторемедиации // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 6. С. 848–858.

Ху Ц. Ц., Ши Г. С., Су Ц. С. и др. Воздействие  $Pb^{+2}$  на активность антиоксидантных ферментов и ультраструктуру клеток листьев *Potamogeton crispus* // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 3. С. 469–474.

Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: СПбГУ, 2002. 244 с.

Шевякова Н. И., Нетронина И. А., Аронова Е. Е., Кузнецов Вл. В. Распределение Cd и Fe в растениях *Mesembryanthemum crystallinum* при адаптации к Cd-стрессу // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 5. С. 756–763.

Шевякова Н. И., Бакулина Е. А., Кузнецов Вл. В. Антиоксидантная роль пролина у галофита хрустальной травки при действии засоления и параквата, инициирующих окислительный стресс // Физиология растений. 2009. Т. 56, № 5. С. 736–742.

Яблоков А. В. Россия: здоровье природы и людей. М.: Галерея-принт, 2007. 224 с.

Abou-Shanab R. A., Angle J. S., Delorme T. A. et al. Rhizobacterial effects on nickel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale* // New Phytol. 2003. V. 158. P. 219–224.

Adriaensen K., Vangronsveld J., Colpaert J. V. Zinc-tolerant *Suillus bovinus* improves growth of Zn-exposed *Pinus sylvestris* seedlings // Mycorrhiza. 2006. V. 16. P. 553–558.

Agrawal G. K., Tamogami S., Iwahashi H. et al. Transient regulation of jasmonic acid-inducible rice MAP kinase gene (*OsBWMK1*) by diverse biotic and abiotic stresses // Plant Physiol. Biochem. 2003. V. 41. P. 355–361.

Ahsan N., Renaut J., Komatsu S. Recent developments in the application of proteomics to the analysis of plant responses to heavy metals // Proteomics. 2009. V. 9. P. 2602–2621.

Aina R., Labra M., Fumagalli P. et al. Thiol-peptide level and proteomic changes in response to cadmium toxicity in *Oryza sativa* L. roots // Environ. Exp. Bot. 2007. V. 59, N 3. P. 381–392.

Alkhatib R., Maruthavanan J., Ghoshroy S. et al. Physiological and ultrastructural effects of lead on tobacco // Biol. Plant. 2011. V. 56, N 4. P. 711–716.

Ali G., Srivastava P. S., Iqbal M. Influence of cadmium and zinc on growth and photosynthesis of *Bacopa monniera* L. cultivated in vitro // Biol. Plant. 2000. V. 43. P. 599–601.

Amirjani M. R. Effects of cadmium on wheat growth and some physiological factors // Int. J. Forest Soil Erosion. 2012. V. 2, N 1. P. 50–58.

Andrés-Colás N., Sancenón V., Rodríguez-Navarro S. et al. The Arabidopsis heavy metal P-type ATPase *HMA5* interacts with metallochaperones and functions in copper detoxification of roots // Plant J. 2006. V. 45. P. 225–236.

Anjum N. A., Ahmad I., Mohmood I. et al. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants responses to toxic metal and metalloids – A review // Environ. Exp. Bot. 2012. V. 75. P. 307–324.

Ann C., Karen S., Jos R. et al. The cellular redox state as a modulator in cadmium and copper responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings // J. Plant Physiol. 2011. V. 168. P. 309–316.

Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. 2004. V. 55. P. 373–399.

Arazi T., Sunkar R., Kaplan B., Fromm H. A tobacco plasma membrane calmodulin-binding transporter confers  $\text{Ni}^{2+}$  tolerance and  $\text{Pb}^{2+}$  hypersensitivity in transgenic plants // Plant J. 1999. V. 20, N 2. P. 171–182.

Arduini I., Godbold D. L., Onnis A. Cadmium and copper uptake and distribution in Mediterranean tree seedlings // *Physiol. Plant.* 1996. V. 97, N 1. P. 111–117.

Argüello J. M., Eren E., González-Guerrero M. The structure and function of heavy metal transport P<sub>1B</sub>-ATPase // *Biometals.* 2007. V. 20. P. 233–248.

Arrivault S., Senger T., Krämer U. The Arabidopsis metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply // *Plant J.* 2006. V. 46, N 5. P. 861–879.

Asada K. Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues // *Causes of photo-oxidative stress and amelioration of defense system in plants* / Eds. C. H. Foyer, P. Mullineaux. Boca Raton: CRC Press, 1994. P. 77–104.

Assunção A. G. L., Herrero E., Lin Y. F. et al. Arabidopsis thaliana transcription factors bZIP19 and bZIP23 regulate the adaptation to zinc deficiency // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 10296–10301.

Astolfi S., Zuchi S., Passera C. Effect of cadmium on the metabolic activity of *Avena sativa* plants grown in soil or hydroponic culture // *Biol. Plant.* 2004. V. 48, N 3. P. 413–418.

Axelsen K. B., Palmgren M. G. Inventory of the superfamily of P-type ion pumps in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2001. V. 126. P. 696–706.

Balakhnina T., Kosobryukhov A., Ivanov A., Kreslavskii V. The effect of cadmium on CO<sub>2</sub> exchange, variable fluorescence of chlorophyll, and the level of antioxidant enzymes in pea leaves // *Russ. J. Plant Physiol.* 2005. V. 52. P. 15–20.

Baker A. J. M. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals // *J. Plant Nutr.* 1981. V. 3, N 1/4. P. 643–654.

Ban Q., Liu G., Wang Y. A DREB gene from *Limonium bicolor* mediates molecular and physiological responses to copper stress in transgenic tobacco // *J. Plant Physiol.* 2011. V. 168. P. 449–458.

Bao T., Sun T., Sun L. Low molecular weight organic acids in root exudates and cadmium accumulation in cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and non-hyperaccumulator *Solanum lycopersicum* L. // *Afr. J. Biotechnol.* 2011. V. 10, N 75. P. 17180–17185.

Barceló J., Poschenrieder C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review // *J. Plant Nutr.* 1990. V. 13. P. 1–37.

Barconi D., Bernardini G., Santucci A. Linking protein oxidation to environmental pollutants: redox proteome approaches // *J. Proteomics.* 2011. V. 74, N. 11. P. 2324–2337.

Bartoli C. G., Casalengué C. A., Simontacchi M., Marquez-Garcia B. Interaction between hormone and redox signalling pathways in the control of growth and cross tolerance to stress // *Environ. Exp. Bot.* 2013. V. 94. P. 73–88.

*Baryla A., Carrier P., Franck F. et al.* Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth // *Planta*. 2001. V. 212. P. 696–709.

*Bauer P., Hell R.* Translocation of iron in plant tissues // *Iron nutrients in plants and rhizospheric microorganisms* / Eds. L. L. Barton, J. Abadia. Netherlands: Springer, 2006. P. 279–288.

*Bazzaz F. A., Rolfe G. L., Windle P.* Effect of Cd on photosynthesis and transpiration of excised leaves of corn and sunflower // *J. Environ. Qual.* 1974. V. 3. P. 156–157.

*Belimov A. A., Safronova V. I., Sergeyeva T. A. et al.* Characterization of plant-promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase // *Can. J. Microbiol.* 2001. V. 47. P. 642–652.

*Belimov A. A., Hontzas N., Safronova V. I. et al.* Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.) // *Soil Biol. Biochem.* 2005. V. 37. P. 241–250.

*Belogurov G. A., Lahti R.* A lysine substitute for K<sup>+</sup> // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. 49651–49654.

*Benavides M. P., Gallardo S. M., Tomaro M.* Cadmium toxicity in plants // *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. V. 17. P. 21–34.

*Berezin I., Mizrachy-Dagry T., Brook E. et al.* Overexpression of AtMHX in tobacco causes increased sensitivity to Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup> ions, induction of V-ATPase expression, and a reduction in plant size // *Plant Cell Rep.* 2008. V. 27. P. 939–949.

*Berta M., Giovannelli A., Potenza E. et al.* Type 3 metallothioneins respond to water deficit in leaf and in the cambial zone of white poplar (*Populus alba*) // *J. Plant Physiol.* 2009. V. 166. P. 521–530.

*Besson-Bard A., Gravot A., Richaud P. et al.* Nitric oxide contributes to cadmium toxicity in Arabidopsis by promoting cadmium accumulation in roots and by up-regulating genes related to iron uptake // *Plant Physiol.* 2009. V. 149. P. 1302–1315.

*Bienert G. P., Möller A. L., Kristiansen K. A. et al.* Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. P. 1183–1192.

*Bishnoi N. R., Sheoran I. S., Singh R.* Influence of cadmium and nickel on photosynthesis and water relations in wheat leaves of different insertion level // *Photosynthetica*. 1993. V. 28, N 3. P. 473–479.

*Blaudez D., Kohler A., Martin F. et al.* Poplar metal tolerance protein 1 confers zinc tolerance and is an oligomeric vacuolar zinc transporter with an essential leucine zipper motif // *Plant Cell*. 2003. V. 15. P. 2911–2928.



Blaylock M. J., Huang J. W. Phytoextraction of metals // Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment / Eds. I. Raskin, B. D. Ensley. N. Y.: J. Wiley and Sons, Inc., 2000. P. 53–70.

Blinda A., Koch B., Ramanjulu S., Dietz K.-J. De novo synthesis and accumulation of apoplastic proteins in leaves of heavy metal-exposed barley seedlings // Plant Cell Environ. 1997. V. 20. P. 969–981.

Blindauer C. A., Schmid R. Cytosolic metal handling in plants: determinants for zinc specificity in metal transporters and metallothioneins // Metallomics. 2010. V. 2. P. 510–529.

Blindauer C. A., Leszczyszyn O. I. Metallothioneins: unparalleled diversity in structures and functions for metal ion homeostasis and more // Nat. Prod. Rep. 2010. V. 27. P. 720–741.

Bočová B., Huttová J., Mistrik I., Tamás L. Auxin signaling is involved in cadmium-induced glutathione-S-transferase activity in barley root // Acta Physiol. Plant. 2013. V. 35. P. 2685–2690.

Bovet L., Rossi L., Lugon-Moulin N. Cadmium partitioning and gene expression studies in *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana rustica* // Physiol. Plant. 2006. V. 128. P. 466–475.

Breskle S. W. Growth under stress: heavy metals // Plant root the hidden half. Marsel Deccer., 1991. P. 351–373.

Bringezu K., Lichtenberger O., Leopold I., Neumann D. Heavy metal tolerance of *Silene vulgaris* // J. Plant Physiol. 1999. V. 154. P. 536–546.

Broadley M. R., White P. J., Hammond J. P. et al. Zinc in plants // New Phytol. 2007. V. 173. P. 677–702.

Brune A., Urbach W., Dietz K.-J. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance // Plant Cell Environ. 1994. V. 17. P. 153–162.

Buchanan B. B., Gruissem W., Jones R. L. Biochemistry and molecular biology plants / Ed. B. B. Buchanan. Amer. Soc. Plant Physiol. Rockville, Maryland. 2000. 1367 p.

Buchanan-Wollaston V. Isolation of cDNA clones for genes that are expressed during leaf senescence in *Brassica napus*. Identification of a gene encoding a senescence-specific metallothionein-like protein // Plant Physiol. 1994. V. 105. P. 839–846.

Bughio N., Yamaguchi H., Nishizawa N. K. et al. Cloning an iron-regulated transporter from rice // J. Exp. Bot. 2002. V. 53. P. 1677–1682.

Burd G. L., Dixon D. G., Glick B. R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants // Can. J. Microbiol. 2000. V. 46. P. 237–245.

Burton G. W., Ingold K. U. Beta-carotene: an unusual type of antioxidant // Science. 1984. V. 224. P. 569–573.

Burzyński M., Migocka M., Kłobus G. Cu and Cd transport in cucumber (*Cucumis sativus* L.) root plasma membranes // Plant Sci. 2005. V. 168. P. 1609–1614.

Cakmak I., Welch R. M., Hart J. et al. Uptake and retranslocation of leaf-applied cadmium ( $^{109}\text{Cd}$ ) in diploid, tetraploid and hexaploid wheats // J. Exp. Bot. 2000. V. 51, N 343. P. 221–226.

Callahan D. L., Baker A. J. M., Kolev S. D., Wedd A. G. Metal ion ligands in hyperaccumulating plants // J. Biol. Inorg. Chem. 2006. V. 11. P. 2–12.

Cataldo C. A., Garland T. R., Wildung R. E. Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants // Plant Physiol. 1983. V. 73. P. 844–848.

Cataldo D. A., McFadden K. M., Garland T. R., Wildung R. E. Organic constituents and complexation of nickel (II), iron (III), cadmium (II) and plutonium (IV) in soybean xylem exudates // Plant Physiol. 1988. V. 86. P. 734–739.

Cazale A.-S., Clemens S. *Arabidopsis thaliana* expresses a second functional phytochelatin synthase // FEBS Lett. 2001. V. 507. P. 215–219.

Chao Y.-Y., Chen C.-Y., Huang W.-D., Kao C. H. Salicylic acid-mediated hydrogen peroxide accumulation and protection against Cd toxicity in rice leaves // Plant Soil. 2010. V. 329. P. 327–337.

Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M. H., Ferjani E. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzymes activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) // Plant Sci. 1997. V. 127. P. 139–147.

Chardonens A. N., Koevoets P. L. M., vanZanten A. et al. Properties of enhanced tonoplast zinc transport in naturally selected zinc tolerant *Silene vulgaris* // Plant Physiol. 1999. V. 120. P. 779–785.

Chekmeneva C., Gusmão R., Díaz-Cruz J. M. et al. From cysteine to longer chain thiols: a thermodynamic analysis of cadmium binding by the phytochelatins and their fragments // Metallomics. 2011. V. 3. P. 838–846.

Chen F., Wu F., Dong J. et al. Cadmium translocation and accumulation in developing barley grains // Planta. 2007. V. 227. P. 223–232.

Chen F., Wang F., Zhang G., Wu F. Identification of barley varieties tolerant to cadmium toxicity // Biol. Trace Elem. Res. 2008. V. 121. P. 171–179.

Chen F., Wang F., Wu F. et al. Modulation of exogenous glutathione in antioxidant defense system against Cd stress in two barley genotypes differing in Cd tolerance // Plant Physiol. Biochem. 2010. V. 48. P. 6636–6672.

Chen J., Zhou J., Goldsbrough P.B. Characterization of phytochelatin synthase from tomato // Physiol. Plant. 1997. V. 101. P. 165–172.

Chen M., Shen X., Li D. et al. Identification and characterization of MtMTP1, a Zn transporter of CDF family, in the *Medicago truncatula* // Plant Physiol. Biochem. 2009. V. 47. P. 1089–1094.

Cheng W., Zhang G., Yao H., Zhang H. Genotypic difference of germination and early seedling growth in response to Cd stress and its relation to Cd accumulation // J. Plant Nutr. 2008. V. 31. P. 702–715.

*Cherian M. G., Howell S. B., Imura N. et al.* Role metallothionein in carcinogenesis // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994. V. 126. P. 1–5.

*Chmielowska-Bąk J., Gzyl J., Rucińska-Sobkowiak R. et al.* The new insights into cadmium sensing // *Front. Plant. Sci.* 2014. 5:245. DOI: 10.3389/fpls.2014.00245.

*Cho U.-H., Park J.-O.* Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings // *Plant Sci.* 2000. V. 156. P. 1–9.

*Cho U.-H., Seo N.-H.* Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation // *Plant Sci.* 2005. V. 168. P. 113–120.

*Chugh L. K., Sawhney S. K.* Effect of cadmium on activities of some enzymes of glycolysis and pentose phosphate pathway in pea // *Biol. Plant.* 1999. V. 42, N 3. P. 401–407.

*Chyan C. L., Lee T. T., Liu C. P. et al.* Cloning and expression of a seed-specific metallothionein-like protein from sesame // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005. V. 69. P. 2319–2325.

*Ci D., Jiang D., Wollenweber B. et al.* Cadmium stress in wheat seedlings: growth, cadmium accumulation and photosynthesis // *Acta Physiol. Plant.* 2010. V. 32. P. 365–373.

*Clemens S.* Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis // *Planta.* 2001. V. 212. P. 475–486.

*Clemens S.* Evolution and function phytochelatin synthases // *J. Plant Physiol.* 2006a. V. 163, N 3. P. 319–332.

*Clemens S.* Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants // *Biochimie.* 2006b. V. 88. P. 1707–1719.

*Clemens S., Simm C.* *Schizosaccharomyces pombe* as a model for metal homeostasis in plant cell: phytochelatin-dependent pathway is the main cadmium detoxification mechanism // *New Phytol.* 2003. V. 159. P. 323–330.

*Clemens S., Kim E., Neumann D., Schroeder J.* Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast // *EMBO J.* 1999. V. 18. P. 3325–3333.

*Clemens S., Palmgren M. G., Krämer U.* A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation // *Trends Plant Sci.* 2002. V. 7, N 7. P. 309–315.

*Clemens S., Simm C., Maier T.* Heavy metal binding proteins and peptides // *Biopolymers*, V. 8: polyamides and complex proteinaceous materials II / Eds. A. Steinbüchel, S. R. Fahnestock. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. P. 255–288.

*Clendennen S. K., May G. D.* Differential gene expression in ripening banana fruit // *Plant Physiol.* 1997. V. 115. P. 463–469.

*Cobbett C. S.* A family of phytochelatin synthase genes in plant, fungal and animal species // *Trends Plant Sci.* 1999. V. 4. P. 335–337.

Cobbett C. S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification // Plant Physiol. 2000. V. 123. P. 825–832.

Cobbett C., Goldsbrough P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis // Annu. Rev. Plant Biol. 2002. V. 53. P. 159–182.

Cobbett C. S., May M. J., Howden R., Rolls B. The glutathione-deficient, cadmium-sensitive mutant, *cad2-1*, of *Arabidopsis thaliana* is deficient in  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase // Plant J. 1998. V. 16. P. 73–78.

Cohen C. K., Garvin D. F., Kochian L. V. Kinetic properties of a micronutrient transporter from *Pisum sativum* indicate a primary function in Fe uptake from the soil // Planta. 2004. V. 218, N 5. P. 784–792.

Collin V. C., Eymery F., Genty B. et al. Vitamin E is essential for the tolerance of *Arabidopsis thaliana* to metal-induced oxidative stress // Plant Cell Environ. 2008. V. 31. P. 244–257.

Collins R. N., Merrington G., McLaughlin M. J., Morel J. L. Organic ligand and pH effects on isotopically exchangeable cadmium in polluted soils // Soil Sci. Soc. Am. J. 2003. V. 67. P. 112–121.

Contesto C., Desbrosses G., Lefoulon C. et al. Effects of rhizobacterial ACC deaminase activity on *Arabidopsis* indicate that ethylene mediates local root responses to plant growth-promoting rhizobacteria // Plant Sci. 2008. V. 175. P. 178–189.

Costa G., Morel J. L. Cadmium uptake by *Lupinus albus* (L.): cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance // J. Plant Nutr. 1993. V. 16. P. 1921–1929.

Curie C., Cassin G., Couch D. et al. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow sprite 1-like transporters // Ann. Bot. 2009. V. 103. P. 1–11.

Cuyppers A., Vangronsveld J., Clijsters H. The redox status of plant cell (AsA and GSH) in sensitive to zinc imposed oxidative stress in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris* // Plant Physiol. Biochem. 2001. V. 39. P. 657–664.

Dabin P., Marafante E., Mousny J. M., Myttenaere C. Absorption, distribution and binding of cadmium and zinc in irrigated rice plants // Plant Soil. 1978. V. 50, N 2. P. 329–341.

DalCorso G., Farinati S., Maistri S., Furini A. How plants cope with cadmium: staking all on metabolism and gene expression // J. Integr. Plant Biol. 2008. V. 50, N 10. P. 1268–1280.

DalCorso G., Farinati S., Furini A. Regulatory networks of cadmium stress plants // Plant Signal. Behav. 2010. V. 5, N 6. P. 663–667.

Dallinger R., Lagg B., Egg M. et al. Cd accumulation and Cd-metallothionein as a biomarker in *Cepaea hortensis* (Helicidae, Pulmonata)

from laboratory exposure and metal-polluted habitats // *Ecotoxicology*. 2004. V. 13. P. 757–772.

Daud M. K., Ali S., Variath M. T., Zhu S. J. Differential physiological, ultramorphological and metabolic responses of cotton cultivars under cadmium stress // *Chemosphere*. 2013. V. 93. P. 2593–2602.

Degrýse F., Verma V. K., Smolders E. Mobilization of Cu and Zn by root exudates of dicotyledonous plants in resin-buffered solution and in soil // *Plant Soil*. 2008. V. 306. P. 69–84.

De Knecht J. A., van Dillen M., Koevoets P. L. M. et al. Phytochelatins in cadmium-sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*. Chain length distribution and sulfide incorporation // *Plant Physiol*. 1994. V. 104. P. 255–261.

De la Fuente J. M., Ramírez-Rodríguez V., Cabrera-Ponce J. L., Herrera-Estrella L. Aluminium tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis // *Science*. 1997. V. 276. P. 1566–1568.

Delhaize E., Jackson P. J., Lujan L. D., Robinson N. J. Poly( $\gamma$ -glutamylcysteinyl)glycine synthesis in *Datura innoxia* and binding with cadmium // *Plant Physiol*. 1989. V. 89. P. 700–706.

Delisle G., Champoux M., Houde M. Characterization of oxidase and cell death in Al-sensitive and tolerant wheat roots // *Plant Cell Physiol*. 2001. V. 42. P. 324–333.

Delorme T. A., Gagliardi J. V., Angle J. S., Chaney R. L. Influence of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J. et C. Presl. and nonmetal accumulator *Trifolium pratense* L. on soil microbial populations // *Can. J. Microbiol*. 2001. V. 47. P. 773–776.

Demirevska-Kepova K., Simova-Stoilova L., Stoyanova Z. et al. Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese // *Environ. Exp. Bot*. 2004. V. 52. P. 253–266.

Demirevska-Kepova K., Simova-Stoilova L., Petrova-Stoyanova Z., Feller U. Cadmium stress in barley: growth, leaf pigment and protein composition and detoxification of reactive oxygen species // *J. Plant Nutr*. 2006. V. 29. P. 451–468.

Dendena B. Cadmium exclusion from rice grains: development of molecular and physiological markers. Doctoral thesis. Milano. 2011.

Deng F., Yamaji N., Xia J., Ma J. F. A member of the heavy metal P-type ATPase OsHMA5 is involved in xylem loading of copper in rice // *Plant Physiol*. 2013. V. 163. P. 1353–1362.

Dias M. C., Monteiro C., Moutinho-Pereira J. et al. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels // *Acta Physiol. Plant*. 2013. V. 35. P. 1281–1289.

Di Cango R., Guidi L., De Gara L., Soldatini G. F. Combined cadmium and ozone treatment affects photosynthesis and ascorbate-dependent defences in sunflower // *New Phytol*. 2001. V. 151. P. 627–636.

DiDonato R. J., Roberts L. A., Sanderson T. et al. Arabidopsis Yellow Stripe-Like2 (YSL2): a metal-regulated gene encoding a plasma membrane transporter of nicotianamine-metal complexes // Plant J. 2004. V. 39. P. 404–414.

Dietz K. J., Baier M., Krämer U. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants // Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems / Eds. M. N. V. Prasad, J. Hagemeyer. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1999. P. 73–97.

Dietz K. J., Tavakoli N., Klude C. et al. Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level // J. Exp. Bot. 2001. V. 52, N 363. P. 1969–1980.

Ding H., Tan M., Zhang C. et al. Hexavalent chromium (VI) stress induces mitogen-activated protein kinase activation mediated by distinct signal molecules in roots of *Zea mays* L. // Environ. Exp. Bot. 2009. V. 67. P. 328–334.

Dixit V., Pandey V., Shyam R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) // J. Exp. Bot. 2001. V. 52, N 358. P. 1101–1109.

Dixon D. P., Davis B. G., Edwards R. Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants. Identification of two classes with putative functions in redox homeostasis in *Arabidopsis thaliana* // J. Biol. Chem. 2002. V. 277. P. 30859–30869.

Djebali W., Gallusci P., Polge C. et al. Modifications in endopeptidase and 20S proteasome expression and activities in cadmium treated tomato (*Solanum lycopersium* L.) plants // Planta. 2008. V. 227. P. 625–639.

Domenech J., Orihuela R., Mir G. et al. The Cd (II)-binding abilities of recombinant *Quercus suber* metallothionein: bridging the gap between phytochelatin and metallothioneins // J. Biol. Inorg. Chem. 2007. V. 12. P. 867–882.

Dorcak V., Krezel A. Correlation of acid-base chemistry of phytochelatin PC2 with its coordination properties towards the toxic metal ion Cd (II) // Dalton Trans. 2003. P. 2253–2259.

Drązkiewicz M., Skórzyńska-Polit E., Krupa Z. Response of the ascorbate-glutathione cycle to excess copper in *Arabidopsis thaliana* (L.) // Plant Sci. 2003. V. 164. P. 195–202.

Du J., Yang J.-L., Li C.-H. Advances in metallothionein studies in forest trees // Plant Omics J. 2012. V. 5, N 1. P. 46–51.

Duffus J. H. “Heavy metals” – a meaningless term? (IUPAC Technical Report) // Pure Appl. Chem. 2002. V. 74, N 5. P. 793–807.

Durand T. C., Hausman J. F., Carpin S. et al. Zinc and cadmium effects on growth and ion distribution in *Populus tremula* x *Populus alba* // Biol. Plant. 2010. V. 54, N 1. P. 191–194.

Durrett T. R., Gassmann W., Rogers E. E. The FRD3-mediated efflux of citrate into the root vasculature is necessary for efficient iron translocation // *Plant Physiol.* 2007. V. 144. P. 197–205.

Eapen S., D'Souza S. F. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals // *Biotechnol. Adv.* 2005. V. 23. P. 97–114.

Ebbs S., Lau I., Ahner B., Kochian L. Phytochelatin synthesis is not responsible for Cd tolerance in Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* (J. and C. Presl). // *Planta.* 2002. V. 214. P. 635–640.

Eide D. J. Zinc transporters and cellular trafficking of Zn // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.* 2006. V. 1763. P. 711–722.

Eren E., Argüello J. M. Arabidopsis HMA2, a divalent heavy metal-transporting P1B-type ATPase, is involved in cytoplasmic Zn<sup>2+</sup> homeostasis // *Plant Physiol.* 2004. V. 136. P. 3712–3723.

Ernst W. H. O. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance // *Effects of air pollutants on plants* / Ed. T. A. Mansfield. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. P. 115–133.

Ernst W. H. O., Verkleij J. A. C., Shat H. Metal tolerance in plants // *Acta Bot. Neerl.* 1992. V. 41. P. 229–248.

Evans K. M., Gatehouse J. A., Lindsay W. P. et al. Expression of the pea metallothionein-like gene PsMTA in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana* and analysis of trace-metal ion accumulation—implications for PsMTA function // *Plant Mol. Biol.* 1992. V. 20. P. 1019–1028.

Ezaki B., Nagao E., Yamamoto Y. et al. Wild plants, *Andropogon virginicus* L. and *Miscanthus sinensis* Anders, are tolerant to multiple stresses including aluminum, heavy metals and oxidative stresses // *Plant Cell Rep.* 2008. V. 27. P. 951–961.

Fagioni M., Damici G. M., Timperio A., Zolla L. Proteomic analysis of multiprotein complexes in the thylakoid membrane upon cadmium treatment // *J. Proteome Res.* 2009. V. 8. P. 310–326.

Farinati S., DalCorso G., Varotto S., Furini A. The *Brassica juncea* BjCdR15, an ortholog of *Arabidopsis* TGA3, is a regulator of cadmium uptake, transport and accumulation in shoots and confers cadmium tolerance in transgenic plants // *New Phytol.* 2010. V. 185. P. 964–978.

Finkel T., Holbrook N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing // *Nature.* 2000. V. 408, N 9. P. 239–247.

Finkemeier I., Kluge C., Metwally A. et al. Alterations in Cd-induced gene expression under nitrogen deficiency in *Hordeum vulgare* // *Plant Cell Environ.* 2003. V. 26. P. 821–833.

Fornazier R. F., Ferreira R. R., Vitoria A. P. et al. Effects of cadmium on antioxidant enzyme activities in sugar cane // *Biol. Plant.* 2002. V. 45. P. 91–97.

Foyer C. H., Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism // *Planta*. 1976. V. 133, N 1. P. 21–25.

Foyer C. H., Noctor G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context // *Plant Cell Environ.* 2005. V. 28. P. 1056–1071.

Foyer C. H., Lopez-Delgado H., Dat J. F., Scott I. M. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling // *Physiol. Plant.* 1997. V. 100. P. 241–254.

Fujimaki S., Suzui N., Ishioka N. S. *et al.* Tracing cadmium from culture to spikelet: noninvasive imaging and quantitative characterization of absorption, transport and accumulation of cadmium in an intact rice plant // *Plant Physiol.* 2010. V. 152. P. 1796–1806.

Fusco N., Micheletto L., DalCorso G. *et al.* Identification of cadmium-regulated genes by cDNA-AFLP in the heavy metal accumulator *Brassica juncea* L. // *J. Exp. Bot.* 2005. V. 56, N 421. P. 3017–3027.

Gaidos E., Lévai L., Veres S., Kovács B. Effect of biofertilizers on maize and sunflower seedlings under cadmium stress // *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2012. V. 43. P. 272–279.

Gallego S. M., Benavides M. P., Tomaro M. L. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress // *Plant Sci.* 1996. V. 121. P. 151–159.

Gallego S. M., Pena L. B., Barica R. A. *et al.* Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insling into regulatory mechanisms // *Environ. Exp. Bot.* 2012. V. 83. P. 33–46.

Galli U., Schüepp H., Brunold Ch. Thois of Cu-treated maize plants inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* // *Physiol. Plant.* 1995. V. 94. P. 247–253.

Gamalero E., Lingua G., Berta G., Glick B. R. Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress // *Can. J. Microbiol.* 2009. V. 55, N 5. P. 501–514.

García-Gomez C., Carbonell G., Tarazona J. V. Binding of cadmium on raw paper pulp. Relationship between temperature and sorption kinetics // *Chemosphere.* 2002. V. 49. P. 533–538.

García-Hernández M., Murphy A., Taiz L. Metallothioneins 1 and 2 have distinct but overlapping expression patterns in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 1998. V. 118. P. 387–397.

Garg N., Kaur H. Response of antioxidant enzymes, phytochelatins and glutathione production towards Cd and Zn stresses in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. genotypes colonized by arbuscular mycorrhizal fungi // *J. Agron. Crop Sci.* 2013. V. 199. P. 118–133.



Gaxiola R. A., Palmgren M. G., Schumacher K. Plant proton pump // FEBS Lett. 2007. V. 581. P. 2204–2014.

Gayomba S. R., Jung H. I., Yan J. et al. The CRT/COPT-dependent copper uptake and SPL7-dependent copper deficiency responses are required for basal cadmium tolerance in *A. thaliana* // Metallomics. 2013. V. 5, N 9. P. 1262–1275.

Gharemaleki T., Rasouli-Sadaghiani M. H., Besharati H., Tavasoli A. Plant growth-promoting microorganisms effect on Cd uptake by *Zea mays* in a contaminated soil // International soil science congress on “Management of natural resources to sustain soil health and quality”. Samsun, Turkey. 2010. P. 1135–1140.

Gill S. S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant Physiol. Biochem. 2010. V. 48. P. 909–930.

Gill S. S., Khan N. A., Tuteja N. Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.) // Plant Sci. 2011. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.04.018.

Godbold D. L., Horst W. J., Collins J. C. et al. Accumulation of zinc and organic acids in root of zinc tolerant and non-tolerant ecotypes of *Deschampsia caespitosa* J. // Plant Physiol. 1984. V. 116, N 1. P. 59–69.

Goldsbrough P. B. Metal tolerance in plants: role of phytochelatins and metallothioneins // Phytoremediation of contaminated soil and water / Eds. N. Terri, G. Bañuelos. Boca Raton: CRC Press, 1998. P. 221–233.

Golldack D., Dietz K.-J. Salt-induced expression of the vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase in the common rice plant is developmentally controlled and tissue specific // Plant Physiol. 2001. V. 125. P. 1643–1654.

Gomes-Junior R. A., Moldes C. A., Delite F. S. et al. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium // Chemosphere. 2006. V. 65. P. 1330–1337.

Gómez G., Pallás V. A long distance translocatable phloem protein from cucumber forms a ribonucleoprotein complex in vivo with Hop stunt viroid RNA // J. Virol. 2004. V. 78. P. 10104–10110.

Gong J. M., Lee D. A., Schroeder J. I. Long distance root-to-shoot transport of phytochelatins and cadmium in *Arabidopsis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 10118–10123.

Gonzalez-Chaves M. C., Wright S. F., Nicols K. A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements // Environ. Pollut. 2004. V. 130. P. 317–323.

Gora L., Clijsters H. Effect of copper and zinc on the ethylene metabolism in *Phaseolus vulgaris* L. // Biochemical and physiological

aspects of ethylene production in lower and higher plants. Dordrecht: Kluwer, 1989. P. 219–228.

Gould K., Lamotte O., Klinguer A. et al. Nitric oxide production by tobacco leaves: a general stress response? // Plant Cell Environ. 2003. V. 26. P. 1851–1862.

Grant C. A., Buckley W. T., Bailey L. D., Selles F. Cadmium accumulation in crops // Can. J. Plant Sci. 1998. V. 78. P. 1–17.

Gratão P. L., Pompeu G. B., Capaldi E. R. et al. Antioxidant response of *Nicotiana tabacum* cv. Bright Yellow 2 cell to cadmium and nickel stress // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2008. V. 94, N 1. P. 73–83.

Green L. S., Rogers E. E. FRD3 controls iron localization in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2004. V. 136. P. 2523–2531.

Greger M., Johansson M. Cadmium effects on leaf transpiration of sugar beet (*Beta vulgaris*) // Physiol. Plant. 2006. V. 86. P. 465–473.

Greger M., Lindberg S. Effects of  $\text{Cd}^{2+}$  and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris*). I.  $\text{Cd}^{2+}$  uptake and sugar accumulation // Physiol. Plant. 1987. V. 66. P. 69–74.

Greger M., Ögren E. Direct and indirect effects of  $\text{Cd}^{2+}$  on photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) // Physiol. Plant. 1991. V. 83. P. 129–135.

Grill E., Wiannacker E. L., Zenk M. H. Phytochelatin: the principal the heavy-metals complexing peptides of higher plants // Science. 1985. V. 230. P. 674–676.

Grill E., Wiannacker E. L., Zenk M. H. Phytochelatin, a class of heavy metals binding peptides from plants, are functionally analogous to metallothioneins // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1987. V. 84. P. 439–443.

Grill E., Löffler S., Wiannacker E. L., Zenk M. H. Phytochelatin, the heavy metals binding peptides of plants, are synthesized from glutathione by a specific  $\gamma$ -glutamylcysteine dipeptidyl transpeptidase (phytochelatin synthase) // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. V. 86. P. 6838–6842.

Groppa M. D., Zawoznik M. S., Tomaro M. L., Benavides M. P. Inhibition of root growth and polyamine metabolism in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings under cadmium and copper stress // Biol. Trace Elem. Res. 2008. V. 126. P. 246–256.

Groppa M. D., Ianuzzo M. P., Rosales E. P. et al. Cadmium modulates NADPH oxidase activity and expression in sunflower leaves // Biol. Plant. 2012. V. 56, N. 1. P. 167–171.

Grotz N., Fox T., Connolly E. et al. Identification of family of zinc transporter genes from *Arabidopsis* that respond to zinc deficiency // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 7220–7224.

Gruenberg J., van der Goot F. G. Mechanisms of pathogen entry through the endosomal compartments // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2006. V. 7. P. 495–504.

Guo B., Liang Y. C., Zhu Y. G., Zhao F. J. Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress // Environ. Pollut. 2007. V. 147. P. 743–749.

Guo T., Zhang G., Zhou M. et al. Effects of aluminium and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barely genotypes with different Al resistance // *Plant Soil*. 2004. V. 258. P. 241–248.

Guo W. J., Bundithya W., Goldsbrough P. B. Characterization of the *Arabidopsis* metallothionein gene family: tissue-specific expression and induction during senescence and in response to copper // *New Phytol*. 2003. V. 159. P. 369–381.

Guo W. J., Meetam M., Goldsbrough P. B. Examining the specific contributions of individual *Arabidopsis* metallothioneins to copper distribution and metal tolerance // *Plant Physiol*. 2008. V. 146. P. 1697–1706.

Guo Y. L., Schulz R., Marschner H. Genotypic differences in uptake and distribution of cadmium and nickel in plants // *Angew. Bot*. 1995. V. 69. P. 42–48.

Gussarsson M., Adalsteinsson S., Jensen P., Asp H. Cadmium and copper interactions on the accumulation and distribution of Cd and Cu in birch (*Betula pendula* Roth) seedlings // *Plant Soil*. 1995. V. 171. P. 185–187.

Gusta L. V., Trischuk R., Weiser C. J. Plant cold acclimation: the role of abscisic acid // *J. Plant Growth Regul*. 2005. V. 24. P. 308–318.

Ha S.-B., Smith A. P., Howden R. et al. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and yeast, *Schizosaccharomyces pombe* // *Plant Cell*. 1999. V. 11. P. 1153–1163.

Habashi F. Gmelin and his Handbuch // *Bull. Hist. Chem*. 2009. V. 34, N 1. P. 30–31.

Hajduch M., Rakwal R., Agrawal G. K. et al. High-resolution two-dimensional electrophoresis separation of proteins from metal-stressed rice (*Oryza sativa* L.) leaves: drastic reductions/fragmentation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and induction of stress-related proteins // *Electrophoresis*. 2001. V. 22. P. 2824–2831.

Hall J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // *J. Exp. Bot*. 2002. V. 53, N 366. P. 1–11.

Hall J. L., Williams L. E. Transition metal transporters in plants // *J. Exp. Bot*. 2003. V. 54. P. 2601–2613.

Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life // *Plant Physiol*. 2006. V. 143. P. 312–322.

Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: University Press, 1999. 936 p.

Halušková L., Valentovičová K., Hittová J. et al. Effects of abiotic stresses on glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activity in barley roots tips // *Plant Physiol. Biochem*. 2009. V. 47. P. 1069–1074.

Hänsch R., Mendel R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) // *Curr. Opin. Plant Biol*. 2009. V. 12. P. 259–266.

*Harada E., Sugase K., Namba K. et al.* Structural elements responsible for the Fe(III)-phytosiderophore specific transport by HvYS1 transporter in barley // FEBS Lett. 2007. V. 581. P. 4298–4302.

*Harris N. S., Taylor G. J.* Remobilization of cadmium in maturing shoots of near isogenic lines of durum wheat that differ in grains cadmium accumulation // J. Exp. Bot. 2001. V. 52, N 360. P. 1473–1481.

*Harris N. S., Taylor G. J.* Cadmium uptake and translocation in seedlings of near isogenic lines of durum wheat that differ in grain cadmium accumulation // BMC Plant Biol. 2004. 4:4.doi: 10.1186/1471–2229–4–4.

*Hart J. J., Welch R. M., Norvell W. A. et al.* Characterization of cadmium binding, uptake and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars // Plant Physiol. 1998. V. 116. P. 1413–1420.

*Hasan S. A., Fariduddin Q., Ali B. et al.* Cadmium: toxicity and tolerance in plants // J. Environ. Biol. 2009. V. 30, N 2. P. 165–174.

*Hassan M. J., Zhang G., Zhu Z.* Influence of cadmium toxicity of plant growth and nitrogen uptake in rice as affected by nitrogen form // J. Plant Nutr. 2008. V. 31. P. 251–262.

*Hassan Z., Aarts M. G. M.* Opportunities and feasibilities for biotechnological improvement of Zn, Cd or Ni tolerance and accumulation in plants // Environ. Exp. Biol. 2011. V. 72. P. 53–63.

*Hatata M. M., Abdel-Aal E. A.* Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in response to cadmium treatments // Amer.-Eur. J. Agric. Environ. Sci. 2008. V. 4, N 6. P. 655–669.

*Haydon M. J., Cobbett C. S.* Transporters of ligands for essential metal ions in plants // New Phytol. 2007. V. 174. P. 499–506.

*Haynes R. J.* Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm: their role in ion accumulation by plants // Biol. Rev. 1980. V. 46, N 1. P. 75–99.

*He J. Y., Zhu C., Ren Y. F. et al.* Root morphology and cadmium uptake kinetics of the cadmium-sensitive rice mutant // Biol. Plant. 2007. V. 51, N 4. P. 791–794.

*Hegedus A., Erdei S., Horvath G.* Comparative studies of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress // Plant Sci. 2001. V. 160. P. 1085–1093.

*Heiss S., Wachter A., Bogs J. et al.* Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure // J. Exp. Bot. 2003. V. 54. P. 1833–1839.

*Herbette S., Taconnat L., Hugouvieux V. et al.* Genome-wide transcriptome profiling of the early cadmium response of *Arabidopsis* roots and shoots // Biochimie. 2006. V. 88. P. 1751–1765.

Hertstein U., Jäger H.-J. Tolerances of different populations of three grass species to cadmium and other metals // Environ. Exp. Bot. 1986. V. 26, N 4. P. 309–319.

Heyno E., Klose C., Krieger-Liszkay A. Origin of cadmium-induced reactive oxygen species production: mitochondrial electron transfer versus plasma membrane NADPH oxidase // New Phytol. 2008. V. 179. P. 687–699.

Higuchi K., Suzuki K., Nakanishi H. et al. Cloning of nicotianamine synthase genes, novel genes involved in the biosynthesis of phytosiderophores // Plant Physiol. 1999. V. 119, N 2. P. 471–480.

Hinsinger P. How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere // Advances in agronomy / Ed. D. L. Sparks. San Diego: Academic, 1998. V. 64. P. 225–265.

Hossian M. A., Fujita M. Evidence for a role exogenous glycinebetaine and proline in antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system in mung bean seedlings under salt stress // Physiol. Mol. Biol. Plant. 2010. V. 16, N 1. P. 19–29.

Hossian M. A., Piyatida P., da Silva J. A. T., Fujita M. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: Central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation // J. Bot. 2012. Article ID 872875, 37 p. DOI:10.1155/2012/872875.

Howden R., Goldsbrough P. B., Andersen C. S., Cobbett C. S. Cadmium-sensitive, cad1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient // Plant Physiol. 1995. V. 107. P. 1059–1066.

Hsieh H. M., Liu W. K., Huang P. C. A novel stress-inducible metallothionein-like gene from rice // Plant Mol. Biol. 1995. V. 28. P. 381–389.

Hsu Y. T., Kao C. H. Role of abscisic acid in cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings // Plant Cell Environ. 2003. V. 26, N 5. P. 867–874.

Hu N., Zhao B. Key genes involved in heavy-metal resistance in *Pseudomonas putida* CD2 // FEMS Microbiol. Lett. 2007. V. 267. P. 17–22.

Hu Y., Ge Y., Zhang C. et al. Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxidase pretreatment // J. Plant Growth Regul. 2009. V. 59. P. 51–61.

Huang G.-Y., Wang Y.-S. Expression and characterization analysis of type 2 metallothionein from grey mangrove species (*Avicennia marina*) in response to metal stress // Aquat. Toxicol. 2010. V. 99. P. 86–92.

Huang S. Q., Peng J., Qiu C. X., Yang Z. M. Heavy metal-regulated new microRNAs from rice // J. Inorg. Biochem. 2009. V. 103. P. 282–287.

Huang T-L., Huang H-J. ROS and CDPK-like kinase-mediated activation of MAP kinase in rice roots exposed to lead // *Chemosphere*. 2008. V. 71. P. 1377–1385.

Hudspeth R. L., Hobbs S. L., Anderson D. M. et al. Characterization and expression of metallothionein-like genes in cotton // *Plant Mol. Biol.* 1996. V. 31. P. 701–705.

Hung W. C., Huang D. D., Yeh C. M., Huang H. J. Reactive oxygen species, calcium and serine/threonine phosphatase are required for copper-induced MAP kinase gene, OsMAPK2, expression in rice // *J. Plant Growth Regul.* 2005. V. 45. P. 233–241.

Hussain D., Haydon M. J., Wang Y. et al. P-type ATPase heavy metal transporters with roles in essential zinc homeostasis in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2004. V. 16. P. 1327–1339.

Husted S., Persson D. P., Laursen K. H. et al. Review: The role of atomic spectrometry in plant science // *J. Anal. At. Spectrom.* 2011. V. 26. P. 52–79.

Iannelli M. A., Pietrini F., Fiore L. et al. Antioxidant response to cadmium in *Pragmites australis* plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2002. V. 40, N 11. P. 977–982.

Iannone M. F., Rosales E. P., Groppa M. D., Benavides M. P. Reactive oxygen species formation and cell death in catalase-deficient tobacco leaf disks exposed to cadmium // *Protoplasma*. 2010. V. 245. P. 15–27.

Inouhe M. Phytochelatins // *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. V. 17, N 1. P. 65–78.

Ishikawa S., Ishimaru Y., Igura M. et al. Ion-beam irradiation, gene identification, and marker-assisted breeding in the development of low-cadmium rice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. V. 109. P. 19166–19171.

Ishimaru Y., Suzuki M., Tsukamoto T. et al. Rice plants take up iron as an  $\text{Fe}^{3+}$ -phytosiderophore and as  $\text{Fe}^{2+}$  // *Plant J.* 2006. V. 45. P. 335–346.

Ishimaru Y., Masuda H., Bashir K. et al. Rice metal-nicotianamine transporter, OsYSL2, is required for the long-distance transport of iron and manganese // *Plant J.* 2010. V. 62. P. 379–390.

Ishimaru Y., Takahashi R., Bashir K. et al. Characterizing the role of rice NRAMP5 in manganese, iron and cadmium transport // *Sci. Rep.* 2012. 2, 286; DOI: 10.1038/srep00286.

Ivanova L. A., Ronzhina D. A., Ivanov L. A. et al. Over-expression of *gshI* in the cytosol affects the photosynthetic apparatus and improves the performance of transgenic poplars of in heavy-metal contaminated soil // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2011. V. 13. P. 1–11.

Jacoby M., Weisshaar B., Vicente-Carbajosa J. et al. bZIP transcription factors in *Arabidopsis* // *Trends Plant Sci.* 2002. V. 7. P. 106–111.

*Jalil A., Selles E., Clarke J. M.* Effect of cadmium on growth and uptake of cadmium and other elements by durum wheat // J. Plant Nutr. 1994. V. 17. P. 1839–1858.

*Janicka-Russak M.* Plant plasma membrane  $H^+$ -ATPase in adaptation of plants to abiotic stresses // Abiotic stress response in plants – physiological, biochemical and genetic perspectives / Ed. A. Shanker. Rijeka (Croatia): INTECH, 2011. P. 197–218.

*Janicka-Russak M., Klobus G.* Modification of plasma membrane and vacuolar  $H^+$ -ATPase in response to NaCl and ABA // J. Plant Physiol. 2007. V. 164. P. 295–302.

*Jaspers P., Kangasjärvi J.* Reactive oxygen species in abiotic stress signaling // Physiol. Plant. 2010. V. 138. P. 405–413.

*Jefferies K. C., Cipriano D. J., Forgas M.* Function, structure and regulation of the vacuolar ( $H^+$ )-ATPases // Arch. Biochem. Biophys. 2008. V. 476, N 1. P. 33–42.

*Jiang W., Liu D.* Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. // BMC Plant Biol. 2010, 10:40. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/10/40>.

*Jin X., Yang X., Islam E. et al.* Effects of cadmium on ultrastructure and antioxidative defense system in hyperaccumulator and nonaccumulator ecotypes of *Sedum alfredii* Hance // J. Hazard. Mater. 2008. V. 156. P. 387–397.

*Jócsák I., Végvári G., Droppa M.* Heavy metal detoxification by organic acids in barley seedlings // Acta Biol. Szeged. 2005. V. 49, N 1–2. P. 99–101.

*Jonak C., Okresz L., Bogre L., Hirt H.* Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling // Curr. Opin. Plant Biol. 2002. V. 5. P. 415–424.

*Jonak C., Nakagami H., Hirt H.* Heavy metal stress. Activation of distinct mitogen-activated protein kinase pathways by copper and cadmium // Plant Physiol. 2004. V. 136. P. 3276–3283.

*Juknys R., Vitkauskaitė G., Račaitė M., Vencloviienė J.* The impacts of heavy metals on oxidative stress and growth of spring barley // Cent. Eur. J. Bot. 2012. V. 7, N 2. P. 299–306.

*Jung H. I., Gayomba S. R., Rutzke M. A. et al.* COPT6 is a plasma membrane transporter that functions in copper homeostasis in Arabidopsis and is a novel target of SQUAMOSA promoter binding protein-like 7 // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. P. 33252–33267.

*Kabala K., Janicka-Russak M.* Differential regulation of vacuolar  $H^+$ -ATPase and  $H^+$ -PPase in *Cucumis sativus* roots by zinc and nickel // Plant Sci. 2011. V. 180. P. 531–539.

Kabala K., Janicka-Russak M., Klobus G. Different responses of tonoplast proton pumps in Cucumber roots to cadmium and copper // J. Plant Physiol. 2010. V. 167. P. 1328–1335.

Kacperska A. Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? // Physiol. Plant. 2004. V. 122. P. 159–168.

Kang J., Hwang J., Lee M. et al. PDR-type ABC transporter mediates cellular uptake of the phytohormone abscisic acid // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 2355–2360.

Kannan S., Keppler H. Absorption and transport of  $Pb^{2+}$  in young pea seedlings // Z. Naturforsch. 1976. V. 31, N 7–8. P. 393–396.

Karimi A., Khodaverdiloo H., Sepehri M., Sadaghiani M. R. Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils // Afr. J. Microbiol. Res. 2011. V. 5, N 13. P. 1572–1576.

Kaur N., Gupta A. K. Signal transduction pathways under abiotic stresses in plants // Curr. Sci. 2005. V. 88, N 1. P. 1771–1780.

Kawachi M., Kobae Y., Mimura T., Maeshima M. Deletion of histidine-rich loop of AtMTP1, a vacuolar  $Zn^{2+}/H^{+}$  antiporter of *Arabidopsis thaliana*, stimulates the transport activity // J. Boil. Chem. 2008. V. 283, N 13. P. 8374–8383.

Kenderešová L., Staňova A., Pavlovkin J. et al. Early  $Zn^{2+}$ -induced effects on membrane potential account for primary heavy metal susceptibility in tolerant and sensitive *Arabidopsis* species // Ann. Bot. 2012. V. 110. P. 445–459.

Kessler A., Brand M. D. The mechanism of the stimulation of state 4 respiration by cadmium in potato tuber (*Solanum tuberosum*) mitochondria // Plant Physiol. Biochem. 1995. V. 33. P. 519–528.

Khan D. I., Duckett J. G., Frankland B., Kirkham J. B. An X-ray microanalytical study of distribution of cadmium in roots of *Zea mays* L. // Plant Physiol. 1984. V. 115. P. 19–28.

Khan M. A., Samiullah S., Singh S., Nazar R. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress // J. Agron. Crop. Sci. 2007. V. 193. P. 435–444.

Khan M. A., Castro-Guerrero N., Mendoza-Cozatl D. G. Moving toward a precise nutrition: preferential loading of seeds with essential nutrients over non-essential toxic elements // Plant Sci. 2014. V. 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00051.

Kholodova V., Volkov K., Abdeyeva A., Kuznetsov V. Water status in *Mesembryanthemum crystallinum* under heavy metal stress // Environ. Exp. Bot. 2011. V. 71. P. 382–389.

Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M. Cadmium-induced changes in leaf epidermis, photosynthetic rate and pigment concentrations in *Cajanus cajan* // Biol. Plant. 2001. V. 44, N 1. P. 59–64.



Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M., Sairam R. K. Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* // Biol. Plant. 2004. V. 48, N 2. P. 255–260.

Khurana N., Singh M. V., Chatterjee C. Copper stress alters physiology and deteriorates seed quality of rapeseed // J. Plant. Nutr. 2006. V. 29, N 1. P. 93–101.

Kim D. Y., Bovet L., Maeshima M. et al. The ABC transporter AtPDR8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance // Plant J. 2007. V. 50. P. 207–218.

Kim J.-A., Agrawal G. K., Rakwal R. et al. Molecular cloning and mRNA expression analysis of a novel rice (*Oryza sativa* L.) MAPK kinase kinase, *OsEDR1*, an ortholog of *Arabidopsis AtERD1*, reveal its role in defense/stress signaling pathways and development // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. V. 300. P. 868–876.

Kim Y., Kim D., Shim D. et al. Expression of the novel wheat gene TM20 confers enhanced cadmium tolerance to baker's yeast // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. P. 15893–15902.

Klapheck S., Flienger W., Zimmer I. Hydroximethyl-phytochelatin [( $\gamma$ -Glu-Cys) $_n$ -Ser] are metal-induced peptides of the Poaceae // Plant Physiol. 1994. V. 104. P. 1325–1332.

Klatte M., Schuler M., Wirtz M. et al. The analysis of *Arabidopsis* nicotianamine synthase mutants reveals functions for nicotianamine in seed iron loading and iron deficiency responses // Plant Physiol. 2009. V. 150. P. 257–271.

Klein M., Martinoia E., Weissenböck G. Directly energized uptake of  $\beta$ -estradiol 17-( $\beta$ -D-glucuronide) in plant vacuoles is strongly stimulated by glutathione conjugates // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. P. 262–270.

Kluge C., Lahr C., Hanitzsch M. et al. New insight into the structure and regulation of the plant vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase // J. Bioenerg. Biomembr. 2003. V. 35. P. 377–388.

Kobae Y., Uemura T., Sato M. H. et al. Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis // Plant Cell Physiol. 2004. V. 45, N 12. P. 1749–1758.

Kochian L. V. Molecular physiology of mineral nutrient acquisition, transport, and utilization // Biochemistry and Molecular Biology of Plants / Eds. B. B. Buchanan, W. Gruissem, R. L. Jones. Rockville (Maryland): Am. Soc. Plant Physiol., 2000. P. 1204–1249.

Kohler A., Blaudez D., Chalot M., Martin F. Cloning and expression of multiple metallothioneins from hybrid poplar // New Phytol. 2004. V. 164. P. 83–93.

Koike S., Inoue H., Mizuno D. et al. OsYSL2 is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem // Plant J. 2004. V. 39. P. 415–424.

Komy Z. R., Gabar R. M., Shoriet A. A., Mohammed R. M. Characterization of acidic sites of *Pseudomonas* biomass capable of binding protons and cadmium and removal of cadmium via biosorption // World J. Microbiol. Biotechnol. 2006. V. 22. P. 975–982.

Kondo N., Isobe M., Imai K. et al. Structure of cadystin, the unit-peptide of cadmium-binding peptides induces in a fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* // Tetrahed. Lett. 1983. V. 24, N 9. P. 925–928.

Kondo N., Imai K., Isobe M. et al. Cadystin A and B, major unit peptides comprising cadmium binding peptides induced in a fission yeast – separation, revision of structures and synthesis // Tetrahed. Lett. 1984. V. 25. P. 3869–3872.

Korenkov V., Hirschi K., Crutchfield I. D., Wagne G. J. Enhancing tonoplast Cd/H antiport activity increases Cd, Zn and Mn tolerance, and impacts root/shoot Cd partitioning in *Nicotiana tabacum* L. // Planta. 2007. V. 226. P. 1378–1387.

Korshunova Y. O., Eide D., Clark W. G. et al. The IRT1 protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range // Plant Mol. Boil. 1999. V. 40. P. 37–44.

Kosobrukhov A., Knyazeva I., Mudrik V. *Plantago major* plants responses to increase content of lead in soil: Growth and photosynthesis // J. Plant Growth Regul. 2004. V. 42. P. 145–151.

Kovačević G., Kastori R., Merkulov L. J. Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead and nickel // Biol. Plant. 1999. V. 4, N 1. P. 119–123.

Kovalchuk I., Titov V., Hohn B., Kovalchuk O. Transcriptome profiling reveals similarities and differences in plant responses to cadmium and lead // Mutat. Res. 2005. V. 570. P. 149–161.

Krantev A., Yordanova R., Janda T. et al. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants // J. Plant Physiol. 2008. V. 165, N 9. P. 920–931.

Krämer U. Cadmium for all meals – plants with an unusual appetite // New Phytol. 2000. V. 145. P. 1–5.

Krämer U. MTP1 mops up excess zinc in Arabidopsis cells // Trends Plant Sci. 2005. V. 10. P. 313–315.

Krämer U., Cotter-Howells J. D., Charnock J. M. et al. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel // Nature (Gr. Brit.). 1996. V. 379. P. 635–638.

Krämer U., Talke I. N., Hanikenne M. Transition metal transport // FEBS Lett. 2007. V. 581. P. 2263–2272.

Krupa Z., Baszyński T. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effects on light and dark reactions // Acta Physiol. Plant. 1995. V. 17. P. 177–190.

Krupa Z., Moniak M. The stage of leaf maturity implicates the response of the photosynthetic apparatus to cadmium toxicity // Plant Sci. 1998. V. 138. P. 149–156.

Krupa Z., Krupa M., Gruszecki W. I. Changes in chlorophyll spectral characteristics in rye seedlings grown under heavy metal stress // Science Access. CSIRO. 2008. Related article S36-008.

Kudo H., Kudo K., Ambo H. et al. Cadmium sorption to plasma membrane isolated from barley roots is impeded by copper association onto membranes // Plant Sci. 2011. V. 180. P. 300–3005.

Lan H. X., Wang Z. F., Wang Q. H. et al. Characterization of a vacuolar zinc transporter OZT1 in rice (*Oryza sativa* L.) // Mol. Biol. Rep. 2012. V. 40. P. 1201–1210.

Lane B., Kajioka R., Kennedy T. The wheat-germ-Ec protein is a zinc-containing metallothionein // Biochem. Cell Biol. 1987. V. 65. P. 1001–1005.

Lasat M. M. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms // J. Environ. Qual. 2002. V. 31. P. 109–120.

Lascano H. R., Casano M., Melchiorre M. N., Trippi V. S. Biochemical and molecular characterisation of wheat chloroplastic glutathione reductase // Biol. Plant. 2001. V. 44, N 4. P. 509–516.

Lee J., Bae H., Jeong J. et al. Functional expression of a bacterial heavy metal transporter in *Arabidopsis* enhances resistance and decreases uptake of heavy metals // Plant Physiol. 2003a. V. 133. P. 588–596.

Lee J., Shim D., Song W. Y. et al. *Arabidopsis* metallothioneins 2a and 3 enhance resistance to cadmium when expressed in *Vicia faba* guard cells // Plant Mol. Boil. 2004. V. 54. P. 805–815.

Lee K. P., Kim C., Landgraf F., Apel K. EXECUTER1- and EXECUTER2-dependent transfer of stress-related signals from the plastid to the nucleus of *Arabidopsis thaliana* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007a. V. 104, N 24. P. 10270–10275.

Lee K., Bae D. W., Kim S. H. et al. Comparative proteomic analyses of the short-term responses of rice roots and leaves to cadmium // J. Plant Physiol. 2010a. V. 167, N 3. P. 161–168.

Lee S., An G. Over-expression of *OsIRT1* leads to increased iron and zinc accumulation in rice // Plant Cell Environ. 2009. V. 32. P. 408–416.

Lee S., Moon J. S., Ko T. et al. Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase paradoxically leads to hypersensitivity to cadmium stress // Plant Physiol. 2003b. V. 131, N 2. P. 656–663.

Lee S., Chiecko J. C., Kim S. A. et al. Disruption of OsYSL1 leads to iron inefficiency in rice plants // Plant Physiol. 2009. V. 150. P. 786–790.

Lee S., Jeong H. J., Kim S. A. et al. OsZIP 5 is a plasma membrane zinc transporter in rice // Plant Mol. Biol. 2010b. V. 73. P. 507–517.

Lee S., Kim S. A., Lee J. et al. Zinc deficiency-inducible *OsZIP8* encodes a plasma membrane-localized zinc transporter in rice // Mol. Cell. 2010c. V. 29. P. 551–558.

Lee S. H., Ashan N., Lee K. W. et al. Simultaneous overexpression of both CuZn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stress // J. Plant Physiol. 2007b. V. 164. P. 1628–1638.

Le Jean M., Schikora A., Mari S. et al. A loss-of-function mutation in *AtYSL1* reveals its role in iron and nicotianamine seed loading // Plant J. 2005. V. 44. P. 769–782.

Leita L., De Nobili M., Cesco C., Mondini C. Analysis of intercellular cadmium forms in roots and leaves of bush bean // J. Plant Nutr. 1996. V. 19. P. 527–533.

Leopold I., Gunther D., Schmidt J., Neumann D. Phytochelatin and heavy metal tolerance // Phytochemistry. 1999. V. 50. P. 1323–1328.

Li E. H., Miles C. D. Effects of cadmium on photoreaction II of chloroplasts // Plant Sci. Lett. 1975. N 5. P. 33–40.

Li T., Yang X., Meng F., Lu L. Zinc absorption and desorption characteristics in root cell wall involving zinc hyperaccumulation in *Sedum alfredii* Hance // J. Zhejiang Univ. Sci. B. 2007. V. 8, N 2. P. 111–115.

Li Y., Dhankher O. P., Carreira L. et al. Overexpression of phytochelatin synthase in *Arabidopsis* leads to enhanced arsenic tolerance and cadmium hypersensitivity // Plant Cell Physiol. 2004. V. 45, N 12. P. 1787–1797.

Li Y., Dhankher O. P., Carreira L. et al. The shoot-specific expression of  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase directs the long-distance transport of thiol-peptides to roots conferring tolerance to mercury and arsenic // Plant Physiol. 2006. V. 141. P. 288–298.

Li Z.-S., Lu Y.-P., Zhen R.-G. et al. A new pathway for vacuolar cadmium sequestration in *Saccharomyces cerevisiae*: YCF1-catalyzed transport of bis(glutathionato) cadmium // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 42–47.

Liao M., Xie X. M. Cadmium release in contaminated soils due to organic acids // Pedosphere. 2004. V. 14. P. 223–228.

Liao M. T., Hedley M. J., Wooley D. J. et al. Copper uptake and translocation in chicory (*Cichorium intybus* L. cv. Grasslands Puna) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Ronly) plants grown in NFT system. II. The role of nicotianamine and histidine in xylem sap copper transport // Plant Soil. 2000. V. 223. P. 243–252.

Liao Y., Zou H.-F., Wei W. et al. Soybean *GmbZIP44*, *GmbZIP62* and *GmbZIP78* genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis* // Planta. 2008. V. 228. P. 225–240.

Lin A., Zhang X., Zhu Y. G., Zhao F. J. Arsenate-induced toxicity: effects on antioxidative enzymes and DNA damage in *Vicia faba* // Environ. Toxicol. Chem. 2008. V. 27. P. 413–419.

Lin C.-W., Chang H.-B., Huang H.-J. Zinc induced mitogen-activated protein kinase activation mediated by reactive oxygen species in rice roots // Plant Physiol. Biochem. 2005. V. 43, N 10–11. P. 963–968.

Lin R., Wang X., Luo Y. et al. Effects of soil cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant system in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) // Chemosphere. 2007. V. 69. P. 89–98.

Lin Y.-F., Aarts G. M. The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants // Cell Mol. Life Sci. 2012. V. 69. P. 3167–3206.

Lin Y. F., Liang H. M., Yang S. Y. et al. Arabidopsis IRT3 is a zinc-regulated and plasma membrane localized zinc/iron transporter // New Phytol. 2009. V. 182. P. 392–404.

Liu D., Jiang W., Gao X. Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic // Biol. Plant. 2003/2004. V. 47, N 1. P. 79–83.

Liu D. H., Wang M., Zou J. H., Jiang W. S. Uptake and accumulation of cadmium and some nutrient ions by roots of maize (*Zea mays* L.) // Pak. J. Bot. 2006. V. 38, N 3. P. 701–709.

Liu H., Zhang J., Christie P., Zhang F. Influence of iron plaque on uptake and accumulation of Cd by rice (*Oryza sativa* L.) seedlings grown in soil // Sci. Total Environ. 2008. V. 394. P. 361–368.

Liu J. G., Qian M., Cai G. L. et al. Variations between rice cultivars in root secretion of organic acids and the relationship with plant cadmium uptake // Environ. Geochem. Health. 2007. V. 29. P. 189–195.

Liu X.-M., Kim K. E., Kim K.-C. et al. Cadmium activates *Arabidopsis* MPK3 and MPK6 via accumulation of reactive oxygen species // Phytochemistry. 2010. V. 71. P. 614–618.

Llamas A., Sanz A. Organ-distinctive changes in respiration rates of rice plants under nickel stress // J. Plant Growth Regul. 2008. V. 54, N 1. P. 63–69.

Llamas A., Ullrich C.I., Sanz A. Cd<sup>2+</sup> effect on transmembrane electrical potential difference, respiration and membrane permeability of rice (*Oryza sativa* L.) roots // Plant Soil. 2000. V. 219. P. 21–28.

Llugany M., Lombini A., Poschenrieder C. et al. Different mechanisms account for enhance copper resistance in *Silene armeria* ecotypes from mine spoil and serpentine sites // Plant Soil. 2003. V. 251. P. 55–63.

Lodewyckx C., Mergeay M., Vangronsveld J. et al. Isolation, characterization, and identification of bacteria associated with the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* subsp. *calaminaria* // Int. J. Phytoremed. 2002. V. 4. P. 101–115.

Lopez-Millan A. F., Ellis D. R., Grusak M. A. Identification and characterization of several new members of the ZIP family of metal transporters in *Medicago truncatula* // Plant Mol. Biol. 2004. V. 54. P. 583–596.

Lozano-Rodríguez E., Hernández L. E., Bonay P., Carpena-Ruiz R. O. Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances // J. Exp. Bot. 1997. V. 48. P. 123–128.

Lu Y. P., Li Z. S., Rea P. A. AtMRP1 gene of *Arabidopsis* encodes a glutathione-S-conjugate pump: isolation and functional definition of a plant ABC-transporter gene // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 8243–8248.

Lu Y. P., Li Z. S., Drozdowicz Y. M. et al. AtMRP2 an *Arabidopsis* ATP binding cassette transporter able to transport glutathione S-conjugates and chlorophyll catabolites: functional comparisons with AtMRP1 // Plant Cell. 1998. V. 10. P. 267–282.

Luna C. M., Gonzalez C. A., Trippi V. S. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves // Plant Cell Physiol. 1994. V. 35. P. 11–15.

Luo H., Li H., Zhang X., Fu J. Antioxidant responses and gene expression in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) under cadmium stress // Ecotoxicology. 2011. V. 20, N 4. P. 770–778.

Lux A., Luxová M., Morita S. et al. Endodermal silification in developing seminal roots of lowland and upland cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) // Can. J. Bot. 1999. V. 77. P. 955–960.

Lux A., Šottníková A., Opatrná J., Greger M. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity // Physiol. Plant. 2004. V. 120. P. 537–545.

Lux A., Martinka M., Vaculík M., White P. J. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review // J. Exp. Bot. 2011. V. 62, N 1. P. 21–37.

Ma J. F., Nomoto K. Inhibition of mugineic acid-ferriic complex uptake in barley by copper, zinc and cobalt // Physiol. Plant. 1993. V. 89. P. 331–334.

Ma L. J., Zhang Y., Bu N., Wang S. H. Alleviation effect of alginate-derived oligosaccharides on *Vicia faba* root tip cells damages by cadmium // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2010. V. 84. P. 161–164.

Ma M., Lau P-S., Jia Y-T. et al. The isolation and characterization of type 1 metallothionein (MT) cDNA from a heavy-metal-tolerant plant, *Festuca rubra* cv Merlin // Plant Sci. 2003. V. 164. P. 51–60.

Ma Y., Rajakumar M., Freitas H. Improvement of plant growth and nickel uptake by nickel resistant-plant-growth promoting bacteria // J. Hazard. Mater. 2009. V. 166. P. 1154–1161.

Mac Farlane G. R., Burchett M. D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove *Avicennia marina* // Mar. Pollut. Bull. 2001. V. 42. P. 223–240.

Macfie S. M., Welbourn P. M. The cell wall as a barrier to uptake of metal ions in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae) // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2000. V. 39. P. 413–419.

*Maeshima M.* Vacuolar H<sup>+</sup>-pyrophosphatase // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. V. 1465. P. 37–51.

*Maeshima M.* Tonoplast transporters: organization and function // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2001. V. 52. P. 469–497.

*Maestri E., Marmiroli M., Visioli G., Marmiroli N.* Metal tolerance and hyperaccumulation: Costs and trade-offs between traits and environment // *Environ. Exp. Bot.* 2010. V. 68. P. 1–13.

*Maier T., Yu C., Küllertz G., Clements S.* Localization and functional characterization of metal-binding sites in phytochelatin synthases // *Planta.* 2003. V. 218. P. 300–318.

*Maitani T., Kubota H., Sato K., Yamada T.* The composition of metal bound to class III metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum* // *Plant Physiol.* 1996. V. 110. P. 1145–1150.

*Maksymiec W.* Effect of copper on cellular processes in higher plants // *Photosynthetica.* 1997. V. 34, N 3. P. 321–342.

*Maksymiec W.* Signaling responses in plants to heavy metal stress // *Acta Physiol. Plant.* 2007. V. 29. P. 177–187.

*Maksymiec W., Baszyński T.* Are calcium and calcium channels involved in the mechanisms of Cu<sup>2+</sup> toxicity in bean plants? The influence of leaf age // *Photosynthetica.* 1999. V. 36. P. 267–278.

*Maksymiec W., Krupa Z.* The effect of short-term exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana* // *Environ. Exp. Bot.* 2006. V. 118. P. 187–194.

*Maksymiec W., Wianowska D., Dawidowicz A. L. et al.* The level of jasmonic acid in *Arabidopsis thaliana* and *Phaseolus coccineus* plants under heavy metal stress // *J. Plant Physiol.* 2005. V. 162. P. 1338–1346.

*Malecka A., Piechalak A., Tomaszewska B.* Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: the whole roots level // *Acta Physiol. Plant.* 2009. V. 31. P. 1053–1063.

*Malic D., Sheoran I. S., Singh R.* Carbon metabolism in leaves of cadmium treated wheat seedlings // *Plant Physiol. Biochem.* 1992. V. 30, N 2. P. 223–229.

*Manara A.* Plant responses to heavy metal toxicity // *Plant and heavy metals* / Ed. A. Furini. Springer Briefs in Molecular Science. NY: Springer, 2012. P. 27–52.

*Margoshes M., Vallee B. L.* A cadmium protein from equine imaging hyperintensity in Alzheimer's disease: correlation with kidney cortex // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. V. 79. P. 4813–4819.

*Mari S., Gendre D., Pianelli K. et al.* Root-to-shoot long-distance circulation of nicotianamine and nicotianamine-nickel chelates in the metal

hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* // J. Exp. Bot. 2006. V. 57, N 15. P. 4111–4122.

MARK Group. Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature // Trends Plant Sci. 2002. V. 7. P. 301–308.

Martínez-Domínguez D., de las Heras M. A., Navarro F. et al. Efficiency of antioxidant response in *Spartina densiflora*: An adaptative success in a polluted environment // Environ. Exp. Bot. 2008. V. 62. P. 69–77.

Martinka M., Lux A. Response of roots of three populations of *Silene dioica* to cadmium treatment // Biologia. 2004. V. 59. P. 185–189.

Martinoia E., Massonneau A., Frangne N. Transport processes of solutes across the vacuolar membrane of higher plants // Plant Cell Physiol. 2000. V. 41. P. 1175–1180.

Mathys W. The role of malate, oxalate, and mustard oil glucosides in evolution of zinc-resistance in herbage plants // Physiol. Plant. 1977. V. 40. P. 130–136.

Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide // J. Exp. Bot. 2000. V. 51, N 345. P. 659–668.

Mazzucotelli E., Mastrangelo A. M., Crosatti C. et al. Abiotic stress response in plants: When post-transcriptional and post-translation regulations control transcription // Plant Sci. 2008. V. 174. P. 420–431.

Meharg A. A. Mechanisms of plant resistance to metal and metalloid ions and potential biotechnological applications // Plant Soil. 2005. V. 274. P. 163–174.

Mench M., Martin E. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L. // Plant Soil. 1991 V. 132. P. 187–196.

Mendoza-Cózatl D. G., Moreno-Sánchez R. Control of glutathione and phytochelatin synthesis under cadmium stress. Pathway modeling for plants // J. Theor. Biol. 2006. V. 238, N 4. P. 919–936.

Mendoza-Cózatl D. G., Devars S., Loza-Tavera H., Moreno-Sánchez R. Cadmium accumulation in the chloroplast of *Euglena gracilis* // Physiol. Plant. 2002. V. 115. P. 276–283.

Mendoza-Cózatl D. G., Butko E., Springer F. et al. Identification of high levels of phytochelatin, glutathione and cadmium in the phloem sap of *Brassica napus*. A role for thiol-peptides in the long-distance transport of cadmium and effects of cadmium on ion translocation // Plant J. 2008. V. 54. P. 249–259.

Mendoza-Cózatl D. G., Zhiyang Z., Jobe T. O. et al. Tonoplast-localized Abc2 transporter mediates phytochelatin accumulation in vacuoles and confers cadmium tolerance // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 40416–40426.

Mendoza-Cózatl D. G., Jobe T. O., Hauser F., Schroeder J. I. Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional



responses induced by cadmium and arsenic // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2011. V. 14. P. 554–562.

Menguer P. K., Farthing E., Peaston K. A. et al. Functional analysis of the rice vacuolar zinc transporter OsMTP1 // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64, N 10. P. 2871–2883.

Merrifield M. E., Ngu T., Stillman M. J. Arsenic binding to *Fucus vesiculosus* metallothionein // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. P. 324. P. 127–132.

Merrington G., Alloway B. J. The flux of Cd, Cu, Pb and Zn in mining polluted soils // *Water Air Soil Pollut.* 1994. V. 73. P. 333–344.

Metwally A., Finkemeier I., Georgi M., Dietz K. J. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings // *Plant Physiol.* 2003. V. 132. P. 272–281.

Metwally A., Safronova V. I., Belimov A. A., Dietz K. J. Genotypic variation of response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. // *J. Exp. Bot.* 2005. V. 56, N 409. P. 167–178.

Meychik N. R., Yermakov I. P. A new approach to the investigation on the ionogenic groups of root cell walls // *Plant Soil.* 1999. V. 217. P. 257–264.

Mhamdi A., Queval G., Chaouch S. et al. Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as a stress-mimic models // *J. Exp. Bot.* 2010. V. 61, N 15. P. 4197–4220.

Migocka M., Kłobus G. The properties of the Mn, Ni and Pb transport operating at plasma membranes of cucumber roots // *Physiol. Plant Sci.* 2007. V. 129. P. 578–587.

Migocka M., Papierniak A., Kosatka E., Kłobus G. Comparative study of the active cadmium efflux systems operating at the plasma membrane and tonoplast of cucumber root cells // *J. Exp. Bot.* 2011. V. 62, N 14. P. 4903–4916.

Mills R. F., Francini A., Ferreira da Rocha P. S. et al. The plant P<sub>1B</sub>-type ATPase AtHMA4 transports Zn and Cd and plays a role in detoxification of transition metals supplied at elevated levels // *FEBS Lett.* 2005. V. 579. P. 783–791.

Mills R. F., Peaston K. A., Runions J., Williams L. E. HvHMA2, a P<sub>1B</sub>-ATPase from barley, is highly conserved among cereals and functions in Zn and Cd transport // *PLoS ONE.* 2012. V. 7: e42640. doi 10.1371/journal.pone.0042640.

Mishra S., Srivastava S., Tripathi R. D. et al. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. // *Plant Physiol. Biochem.* 2006. V. 44. P. 25–37.

Misra A., Srivastava A. K., Srivastava N. K., Khan A. Zn-acquisition and its role in growth, photosynthesis, photosynthetic pigments, and biochemical

changes in essential monoterpene oil(s) of *Pelargonium graveolens* // *Photosynthetica*. 2005. V. 43, N 1. P. 153–155.

Mitsuda N., Ohme-Takagi M. Functional analysis of transcription factors in *Arabidopsis* // *Plant Cell Physiol*. 2009. V. 50. P. 1232–1248.

Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci*. 2002. V. 7, N 9. P. 405–409.

Molas J. Changes in morphological and anatomical structure of cabbage (*Brassica oleracea* L.) outer leaves and in ultrastructure of their chloroplasts caused by an *in vitro* excess of nickel // *Photosynthetica*. 1997. V. 34, N 4. P. 513–522.

Montanini B., Blaudez D., Jeandroz S. et al. Phylogenetic and functional analysis of the Cation Diffusion Facilitator (CDF) family: improved signature and prediction of substrate specificity // *BMC Genomics*. 2007, 8:107. DOI: 10.1186/1471-2164-8-107.

Moreau S., Thomson R. M., Kaiser B. N. et al. GmZIP1 encodes a symbiosis-specific zinc transporter in soybean // *J. Biol. Chem*. 2002. V. 277. P. 4738–4746.

Morel M., Crouzet J., Gravot A. et al. AtHMA3, a P<sub>1B</sub>-ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2009. V. 149, N 2. P. 894–904.

Morrison R. S., Brooks R. R., Reeves R. D. et al. The diverse chemical forms of heavy metals in tissue extracts of some metallophytes from Shaba province, Zaire // *Phytochemistry*. 1981. V. 20, N 1. P. 455–458.

Morsy A. A., Salama K. H. A., Kamel H. A., Mansour M. M. F. Effect of heavy metals on plasma membrane lipids and antioxidant enzymes of *Zygophyllum* species // *Eurasia J. Biosci*. 2012. V. 6. P. 1–10.

Moussa H. R., El-Gamal S. M. Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat // *Biol. Plant*. 2010. V. 54. P. 315–320.

Mouron S. A., Grillo C. A., Dulout F. N., Golijow C. D. A comparative investigation of DNA strand breaks, sister chromatid exchanges and K-ras gene mutations induced by cadmium salts in cultured human cells // *Mutat. Res*. 2004. V. 568, N 1. P. 221–231.

Muneer S., Qardi T. N., Mahmooduzzaffar, Siddiqi O. Cytogenetic and biochemical investigations to study the response of *Vigna radiata* to cadmium stress // *Afr. J. Plant Sci*. 2011. V. 5, N 3. P. 183–192.

Murasugi A., Wada C., Hayashi Y. Cadmium-binding peptide induced in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* // *J. Biochem*. 1981. V. 90. P. 1561–1564.

Murata Y., Ma J. F., Yamaji N. et al. A specific transporter for iron(III)-phytosiderophore in barley roots // *Plant. J*. 2006. V. 46. P. 563–572.

Nagasaka S., Takahashi M., Nakanishi-Itai R. et al. Time course analysis of gene expression over 24 hours in Fe-deficient barley roots // Plant Mol. Biol. 2009. V. 69. P. 621–631.

Nakanishi H., Ogawa I., Ishimari Y. et al. Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the Fe<sup>2+</sup> transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice // Soil Sci. Plant Nutr. 2006. V. 52. P. 464–469.

Nakazawa R., Kato H., Kameda Y., Takenada H. Optimum assay condition of the activity of phytochelatin synthase from tobacco cell // Biol. Plant. 2002. V. 45. P. 311–313.

Navarro A., Quiros L., Casado M. et al. Physiological responses to mercury in feral carp populations inhabiting the low Ebro River (NE Spain), a historically contaminated site // Aquat. Toxicol. 2009. V. 93. P. 150–157.

Nazar R., Iqbal N., Masood A. et al. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation // Amer. J. Plant Sci. 2012. V. 3. P. 1476–1489.

Neill S., Barros R., Bright J., Desikan R. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress // J. Exp. Bot. 2008. V. 59. P. 165–176.

Nichol B. E., Oliveira I. A., Glass A. D. M., Siddiqi M. Y. The effects of aluminium on the influx of calcium, potassium, ammonium, nitrate and phosphate in an aluminium-sensitive cultivar of barley (*Hordeum vulgare* L.) // Plant Physiol. 1993. V. 101. P. 1263–1266.

Nicholson F. A., Jones K. C., Johnston A. E. Effect of phosphate fertilizers and atmospheric deposition on long-term changes in the cadmium content of soils and crops // Environ. Sci. Technol. 1994. V. 28. P. 2170–2175.

Nies D. H. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes // FEMS Microbiol. Rev. 2003. V. 27. P. 313–339.

Niklas K. J. Functional adaptation and phenotypic plasticity at the cellular and whole plant level // J. Biosci. 2008. V. 33. P. 613–620.

Nishiyama Y., Allakhverdiev S. I., Mutata N. Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II // Physiol. Plant. 2011. V. 142. P. 35–46.

Nishizono H., Ichikawa H., Suzuki S., Ishii F. The role of the root cell wall in the heavy metal tolerance of *Anthyrium yokoscense* // Plant Soil. 1987. V. 101. P. 15–20.

Nocito F. F., Espen L., Crema B. et al. Cadmium induces acidosis in maize root cells // New Phytol. 2008. V. 179. P. 700–711.

Noctor G., Foyer C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1998. V. 49. P. 249–289.

Noctor G., Gormez L., Vanacker H., Foyer C. H. Glutathione homeostasis and signaling: the influence of biosynthesis, compartmentation and transport // J. Exp. Bot. 2002a. V. 53. P. 1283–1304.

Noctor G., Veljovic-Jovanovic S., Driscoll S. et al. Drought and oxidative load in wheat leaves: a predominant role for photorespiration? // Ann. Bot. 2002b. V. 89. P. 841–850.

Noctor G., Queval G., Mhamdi A. et al. Glutathione // The Arabidopsis Book 9. 2011. P. 1–42.

Nouairi I., Ammar W. B., Youssef N. B. et al. Comparative study of cadmium effects on membrane lipid composition of *Brassica juncea* and *Brassica napus* leaves // Plant Sci. 2006. V. 170, N 3. P. 511–519.

Nouairi I., Ben Ammar W., Ben Youssef N. et al. Antioxidant defense system in leaves of Indian mustard (*Brassica juncea*) and rape (*Brassica napus*) under cadmium stress // Acta Physiol. Plant. 2009. V. 31, N 2. P. 237–247.

Nyquist J., Greger M. Response of two wetland plant species to Cd exposure at low neutral pH // Environ. Exp. Bot. 2009. V. 65. P. 417–424.

Ogawa I., Nakanishi H., Mori S., Nishizawa N. K. Time course analysis of gene regulation under cadmium stress in rice // Plant Soil. 2009. V. 325. P. 97–108.

Ogawa S., Yoshidomi T., Yoshimura E. Cadmium (II)-stimulated enzyme activation of *Arabidopsis thaliana* phytochelatin synthase 1 // J. Inorg. Biochem. 2011. V. 105. P. 111–117.

Olmos E., Martínez-Solano J. R., Piqueras A., Hellín E. Early steps in the oxidative burst induced by cadmium in cultured tobacco cells (BY-2 line) // J. Exp. Bot. 2003. V. 54, N 381. P. 291–301.

Opdenakker K., Remans T., Keunen E. et al. Exposure of *Arabidopsis thaliana* to Cd or Cu excess leads to oxidative stress mediated alterations in MAPKinase transcript levels // Environ. Exp. Bot. 2012. V. 83. P. 53–61.

Ortega-Villasante C., Rellán-Álvarez R., Del Campo F. F. et al. Cellular damage induced by cadmium and mercury in *Medicago sativa* // J. Exp. Bot. 2005. V. 56, N 418. P. 2239–2251.

Ortega-Villasante C., Hernández L. E., Rellán-Álvarez R. et al. Rapid alteration of cellular redox homeostasis upon exposure to cadmium and mercury alfalfa seedlings // New Phytol. 2007. V. 176, N 1. P. 96–107.

Ouzounidou G., Moustakas M., Eleftheriou E. P. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves // Environ. Contamin. Toxicol. 1997. V. 32, N 2. P. 154–160.

Oven M., Grill E., Golan-Goldhirsh A. et al. Increase of free cysteine and citric acid in plant cell exposed to cobalt ions // Phytochem. 2002. V. 60, N 5. P. 467–474.

Özyiğit I. I., Akinci Ş. Effects of come stress factor (aluminium, cadmium and drought) on stomata of roman nettle (*Urtica pilulifera* L.) // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cl. 2009. V. 37. P. 108–115.

Page V., Feller U. Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat plants // Ann. Bot. 2005. V. 96. P. 425–434.

Palma J. M., López-Huertas E., Corpas F. J. et al. Peroxisomal manganese superoxide dismutase: purification and properties of the isozyme from pea leaves // Physiol. Plant. 1998. V. 104. P. 720–726.

Palmiter R. D., Findley S. D. Cloning and functional characterization of mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc // EMBO J. 1995. V. 14. P. 639–649.

Panda S. K., Chaudhury I., Khan M. H. Heavy metals induce lipid peroxidation and affect antioxidants in wheat leaves // Biol. Plant. 2003. V. 46. P. 289–294.

Paradiso A., Berardino R., de Pinto M. C. et al. Increase in the ascorbate-glutathione metabolism as local and precocious systemic responses induced by cadmium in durum wheat plants // Plant Cell Physiol. 2008. V. 49. P. 362–374.

Park J., Song W. Y., Ko D. et al. The phytochelatin transporters AtBBC1 and AtBBC2 mediate tolerance to cadmium and mercury // Plant J. 2012. V. 69. P. 278–288.

Pavlovkin J., Luxová M., Mistříková I., Mistřík I. Short- and long-term effects of cadmium on transmembrane electric potential ( $E_m$ ) in maize roots // Biol. Bratislava. 2006. V. 61, N 1. P. 109–114.

Pedas P., Ytting C. K., Fuglsand C. K. et al. Manganese efficiency in barley: identification and characterization of the metal ion transporter HvIRT1 // Plant Physiol. 2008. V. 148. P. 455–466.

Pedas P., Schjoerring J. K., Husted S. Identification and characterization of zinc-starvation-induced ZIP transporters from barley roots // Plant Physiol. Biochem. 2009. V. 47. P. 377–383.

Perfus-Barbeoch L., Leonhardt N., Vavasseur A., Forestier C. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status // Plant J. 2002. V. 32. P. 539–548.

Persans M. W., Yan X., Patnoe J.-M. M. L. et al. Molecular dissection in the role of histidine in nickel hyperaccumulation in *Thlaspi goesingense* (Hálácsy) // Plant Physiol. 1999. V. 121. P. 1117–1126.

Philip L., Iyengar L., Venkobachar C. Site of interaction of copper on bacillus polymyxa // Water Air Soil Pollut. 2000. V. 119. P. 11–21.

Pianelli K., Mari S., Marquès L. et al. Nicotianamine over-accumulation confers resistance to nickel in *Arabidopsis thaliana* // Transgenic Res. 2005. V. 14. P. 739–748.

Pietrini F., Iannelli M. A., Pasqualini S., Massacci A. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and

chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel // Plant Physiol. 2003. V. 133, N 2. P. 829–937.

Pinto A. P., Mota A. M., de Varennes A., Pinto F. C. Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants // Sci. Total. Environ. 2004. V. 326. P. 239–247.

Pinto E., Sigaud-Kutner T. C. S., Leitao M. A. S. et al. Heavy metal-induced oxidative stress in algae // J. Phycol. 2003. V. 39. P. 1008–1018.

Podar D., Scherer J., Noordally Z. et al. Metal selectivity determinants in a family of transition metal transporters // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. P. 3185–3196.

Pomponi M., Censi V., Di Girolamo V. et al. Overexpression of Arabidopsis phytochelatin synthase in tobacco plants enhances Cd<sup>2+</sup> tolerance and accumulation but not translocation to the shoot // Planta. 2006. V. 223. P. 180–190.

Poschenrieder C., Barceló J. Water relation in heavy metals stressed plants // Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems / Eds. M. N. V. Prasad, J. Hagemeyer. Heidelberg: Springer-Verlag, 1999. P. 207–230.

Poschenrieder C., Gunse B., Barcelo J. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance and abscisic acid content in expanding bean leaves // Plant Physiol. 1989. V. 90. P. 1365–1371.

Prasad M. N. V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants // Environ. Exp. Bot. 1995. V. 35. P. 525–545.

Prasad M. N. V. (Ed.) Heavy metal stress in plants: from biomolecules to ecosystems, 2nd ed. Heidelberg: Springer-Verlag, 2004. 462 p.

Prasad M. N. V., Malec P., Waloszek A. et al. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation // Plant Sci. 2001. V. 161. P. 881–889.

Puertas-Mejia M. A., Ruiz-Díez B., Fernández-Pascual M. Effect of cadmium ion excess over cell structure and functioning of *Zea mays* and *Hordeum vulgare* // Biochem. Syst. Ecol. 2010. V. 38. P. 285–291.

Puig S. Function and regulation of the plant COPT family of high-affinity copper transport proteins // Adv. Bot. V. 2014, Article ID 476917. 9 p. <http://dx.doi.org/10.1155/2014.476917>.

Puig S., Penarrubia L. Placing metal micronutrients in context: transport and distribution in plants // Plant Biol. 2009. V. 12. P. 229–306.

Qi X., Zhang Y., Chai T. Characterization of a novel plant promoter specifically induced by heavy metal and identification of the promoter regions conferring heavy metal responsiveness // Plant Physiol. 2007. V. 143. P. 50–59.

Qureshi M. I., Abdin M. Z., Qadir S., Iqbal M. Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia* Vahl. // Biol. Plant. 2007. V. 51, N 1. P. 121–128.

Rakwal R., Tomogami S., Kodama O. Role of jasmonic acid as a signalling molecule in copper chloride-elicited rice phytoalexin production // Biosci. Biotechnol. Biochem. 1996. V. 60. P. 1046–1048.

Ramesh S. A., Shin R., Eide D. J., Schachtman D. P. Differential metal selectivity and gene expression of two zinc transporters from rice // Plant Physiol. 2003. V. 133. P. 126–134.

Ramos I., Esteban E., Lucena J. J., Gárate A. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants *Latuca* sp. Cd–Mn interaction // Plant Sci. 2002. V. 162. P. 761–767.

Rauser W. E. Phytochelatin and related peptides: structure, biosynthesis and function // Plant Physiol. 1995. V. 109. P. 1141–1149.

Rauser W. E. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins // Cell Biochem. Biophys. 1999. V. 31. P. 19–48.

Rauser W. E., Curvetto N. R. Metallothionein occurs in roots of *Agrostis* tolerant to copper // Nature. 1980. V. 287. P. 563–564.

Rauser W. E., Mewly P. Retention of cadmium in roots of maize seedlings: role of complexation of phytochelatin and related thiol peptides // Plant Physiol. 1995. V. 109. P. 195–202.

Rea P. A., Britten C. J., Jennings I. R. et al. Regulation of vacuolar H<sup>+</sup> - pyrophosphatase by free calcium // Plant Physiol. 1992. V. 100. P. 1706–1715.

Reddy G. N., Prasad M. N. V. Characterization of cadmium binding protein from *Scenedesmus quadricauda* and Cd toxicity reversal by phytochelatin constituting amino acids and citrate // J. Plant Physiol. 1992. V. 140, N 2. P. 156–162.

Redjala T., Sterckeman T., Morel J. L. Cadmium uptake roots: contribution of apoplast and of high- and low-affinity membrane transport system // Environ. Exp. Bot. 2009. V. 67. P. 235–242.

Redjala T., Zelko I., Sterckeman T. et al. Relationship between root structure and root cadmium uptake in maize // Environ. Exp. Bot. 2011. V. 71. P. 241–248.

Reese R. N., Wagner G. J. Properties of tobacco (*Nicotiana tabacum*) cadmium-binding peptide(s) // Biochem. J. 1987. V. 241. P. 641–647.

Reese R. N., White C. A., Winge D. R. Cadmium sulfide crystallites in Cd-( $\gamma$ -EC)<sub>n</sub>G peptide complexes from tomato // Plant Physiol. 1992. V. 98. P. 225–229.

Regvar M., Vogel-Mikuš K. Recent advances in understanding of plant responses to excess metals: exposure, accumulation and tolerance // Sulfur assimilation and abiotic stress in plants / Ed. N. A. Khan. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. P. 227–251.

Rellán-Álvarez R., Ortega-Villasante C., Álvarez-Fernández A. et al. Stress responses of *Zea mays* to cadmium and mercury // Plant Soil. 2006. V. 279. P. 41–50.

Rellán-Álvarez R., Abadía J., Álvarez-Fernández. Formation of metal-nicotianamine complexes as affected by pH, ligand exchange with citrate and metal exchange. A study by electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2008. V. 22, N 10. P. 1553–1562.

Rentel M. C., Lecourieux D., Ouaked F. et al. OX11 kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in Arabidopsis // Nature. 2004. V. 427, N 6977. P. 858–861.

Reynolds T. L., Crawford R. L. Changes in abundance of an abscisic acid-responsive, early cysteine-labeled metallothionein transcript during pollen embryogenesis in bread wheat (*Triticum aestivum*) // Plant Mol. Biol. 1996. V. 32. P. 823–829.

Ricachenevsky F. K., Menguer P. K., Sperotto R. A. et al. Roles of plant metal tolerance proteins (MTP) in metal storage and potential use in biofortification strategies // Plant Sci. 2013. V. 4. P. 1–16.

Rivetta A., Negrini N., Cocucci M. Involvement of  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulin in  $\text{Cd}^{2+}$  toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination // Plant Cell Environ. 1997. V. 20. P. 600–608.

Robinson B. H., Tommey A. M., Kuske C., Jackson P. J. Plant metallothioneins // Biochem. J. 1993. V. 295. P. 1–10.

Robinson B., Russell C., Hedley M., Clothier B. E. Cadmium absorption by rhizobacteria: implications for New Zealand pastureland // Agric. Ecosyst. Environ. 2001. V. 87. P. 315–321.

Rodríguez R., Redman R. Balancing the generation and elimination of reactive oxygen species // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102, N 9. P. 3175–3176.

Rodríguez-Llorente I. D., Pérez-Palacios P., Doukkali B. et al. Expression of the seed-specific metallothionein mt4a in plant vegetative tissues increases Cu and Zn tolerance // Plant Sci. 2010. V. 178. P. 327–332.

Rodríguez-Serrano M., Romero-Puestras M. C., Pazmiño D. M. et al. Cellular response of pea plants to cadmium toxicity: cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide, and calcium // Plant Physiol. 2009. V. 150, N 1. P. 229–243.

Rogers E. E., Eide D. J., Guerinot M. L. Altered selectivity in an *Arabidopsis* metal transporter // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 12356–12360.

Romanowska E., Igamberdiev A. V., Parys E., Gardeström P. Stimulation of respiration by  $\text{Pb}^{2+}$  in detached leaves and mitochondria of  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  plants // Physiol. Plant. 2002. V. 116, N 2. P. 148–154.

Romero-Puertas M. C., Palma J. M., Gómez M. et al. Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants // Plant Cell Environ. 2002. V. 25. P. 677–686.



Romero-Puertas M. C., Rodríguez-Serrano M., Corpas F. J. et al. Cadmium-induced subcellular accumulation of  $O_2^-$  and  $H_2O_2$  in pea leaves // Plant Cell Environ. 2004. V. 27, N 9. P. 1122–1134.

Römheld V., Awad F. Significance of root exudates in acquisition of heavy metal from a contaminated calcareous soil by graminaceous species // J. Plant Nutr. 2000. V. 23. P. 1857–1866.

Ros R., Morales A., Segura J., Picazo I. In vivo and in vitro effects of nickel and cadmium on the plasmalemma ATPase from rice (*Oryza sativa* L.) shoots and roots // Plant Sci. 1992. V. 83. P. 1–6.

Ross S. M., Kaye K. J. The meaning of metal toxicity in soil-plant systems // Toxic metals in soil-plant systems / Ed. S. M. Ross. N. Y.: Wiley, 1994. P. 27–61.

Roychoudhury A., Basu S., Sengupta D. N. Antioxidants and stress-related metabolites in seedlings of two indica rice varieties exposed to cadmium chloride toxicity // Acta Physiol. Plant. 2011. DOI 10.1007/s11738-011-0881-y.

Russo M., Sgherri C., Izzo R., Navari-Izzo F. *Brassica napus* subjected to copper excess: phospholipases C and D and glutathione system in signaling // Environ. Exp. Bot. 2008. V. 62, N 3. P. 238–246.

Ryan P. R., Delhaize E., Jones D. L. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 2001. V. 52. P. 527–560.

Safronova V. I., Stepanok V. V., Engqvist G. L. et al. Root-associated bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase improve growth and nutrient uptake by pea genotypes cultivated in cadmium supplemented soil // Biol. Fertil. Soil. 2006. V. 42. P. 267–272.

Sagner S., Kneer R., Wanner G. et al. Hyperaccumulation, complexation and distribution of nickel in *Sebertia acuminata* // Phytochemistry. 1998. V. 47. P. 339–347.

Salt D. Responses and adaptations of plants to metal stress // Molecular analysis of plant adaptation to the environment / Eds. M. J. Hawkesford, P. Buchner. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. P. 159–179.

Salt (2004) <http://scienceblog.com/community/older/2004/7/20046707.shtm>.

Salt D. E., Rauser W. E. MgATP-dependent transport of phytochelatin across the tonoplast of oat roots // Plant Physiol. 1995. V. 107. P. 1293–1301.

Salt D. E., Wagner G. J. Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots // J. Biol. Chem. 1993. V. 268. P. 12297–12302.

Salt D. E., Prince R. C., Baker A. J. M. et al. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray spectroscopy // Environ. Sci. Technol. 1999. V. 33. P. 713–717.

Šamajová O., Plíhl O., Al-Yousif M. et al. Improvement of stress tolerance in plants by genetic manipulation of mitogen-activated protein kinases // Biotechnol. Adv. 2013. V. 31. P. 118–128.

Samardzic J. T., Nikloic D. B., Timotijevic G. S. et al. Tissue expression analysis of FeMT3, a drought and oxidative stress related metallothionein gene from buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) // J. Plant Physiol. 2010. V. 67. P. 1407–1411.

Sandalio L. M., Dalurzo H. C., Gómez M. et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants // J. Exp. Bot. 2001. V. 52, N 364. P. 2115–2126.

Sandalio L. M., Rodríguez-Serrano M., del Rio L. A., Romero-Puertas M. C. Reactive oxygen species and signaling in cadmium toxicity // Signaling and communication in plants / Eds. L. A. del Rio, A. Puppo. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 175–189.

Sanità di Toppi L., Gabbrielli R. Response to cadmium in higher plants // Environ. Exp. Bot. 1999. V. 41. P. 105–130.

Sanità di Toppi L., Meharg A. A. Metal(loid) homeostasis, detoxification and tolerance in plants and lichens: advances in understanding mechanisms // Environ. Exp. Bot. 2011. V. 72, N 1. P. 1–2.

Sanità di Toppi L., Lambardi M., Pazzagli L. et al. Response to cadmium in carrot in vitro plants and cell cultures // Plant Sci. 1998. V. 137, N 2. P. 119–129.

Sarret G., Saumitow-Laprade P., Bert V. et al. Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* // Plant Physiol. 2002. V. 130. P. 1815–1826.

Sarry J. E., Kuhn L., Ducruix C. et al. The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses // Proteomics. 2006. V. 6. P. 2180–2198.

Sarwar N., Saifullah, Malhi S. S. et al. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants // J. Sci. Food. Agric. 2010. V. 90. P. 925–937.

Sasaki A., Yamaji N., Yokosho K., Ma J. F. Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice // Plant Cell. 2012. V. 24. P. 2155–2167.

Sato-Nagasawa N., Mori M., Nakazawa N. et al. Mutation in rice (*Oryza sativa*) heavy metal ATPase2 (*OsHMA2*) restrict the translocation of zinc and cadmium // Plant Cell Physiol. 2012. V. 53, N 1. P. 213–224.

Sävenstrand H., Strid Å. Six genes strongly regulated by mercury in *Pisum sativum* roots // Plant Physiol. Biochem. 2004. V. 42. P. 135–142.

Schaaf G., Ludewig U., Erenoglu B. E. et al. ZmYS1 functions as a proton-coupled symporter for phytosiderophore- and nicotianamine-chelated metals // J. Biol. Chem. 2004. V. 279, N 10. P. 9091–9096.

Schaaf G., Schikora A., Haberle J. et al. A putative function for Arabidopsis Fe-phytosiderophore transporter homolog AtYSL2 in Fe and Zn homeostasis // Plant Cell Physiol. 2005. V. 46. P. 762–774.

Schat H., Kalff M. M. F. Are phytochelatins involved in differential metal tolerance or do they merely reflect metal-imposed strain? // *Plant Physiol.* 1992. V. 99. P. 1475–1480.

Schat H., Ten Bookum W. M. Genetic control of copper tolerance in *Silene vulgaris* // *Heredity*. 1992. V. 68. P. 219–229.

Schat H., Llugany M., Vooijs R. et al. The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53. P. 2381–2392.

Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis // *Ecophysiology of photosynthesis*. Berlin: Ecological Studies, 1994. V. 100. P. 49–70.

Schreiber L., Hartmann K., Skrabs M., Zeier J. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls // *J. Exp. Bot.* 1999. V. 50. P. 1267–1280.

Schützendübel A., Polle A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53, N 372. P. 1351–1365.

Semane B., Cuypers A., Smeets K. et al. Cadmium responses in *Arabidopsis thaliana*: glutathione metabolism and antioxidative defence system // *Physiol. Plant.* 2007. V. 129. P. 519–528.

Seth C.S., Remans T., Keunen E. et al. Phytoextraction of toxic metals: a central role for glutathione // *Plant Cell Environ.* 2012. V. 35. P. 334–346.

Setyaningsih L., Setaidi Y., Sopandie D., Budi S. W. Organic acid characteristics and tolerance of sengon (*Paraserianthes falcataria* L. Nielsen) to lead // *JMHT*. 2012. V. 18, N 3. P. 177–183.

Shah K., Dubey R. S. Cadmium elevates level of protein, amino acids and alters activity of proteolytic enzymes in germinating rice seeds // *Acta Physiol. Plant.* 1998. V. 20, N 2. P. 189–196.

Shah K., Singh P., Nahakpam S. Effect of cadmium uptake and heat stress on root ultrastructure, membrane damage and antioxidative response in rice seedlings // *J. Plant Biotechnol.* 2013. V. 22, N 1. P. 103–112.

Sharma P., Dubey R. S. Lead toxicity in plants // *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. V. 17, N 1. P. 35–52.

Sharma R. K., Agrawal M. Biological effects of heavy metals: An overview // *J. Environ. Biol.* 2005. V. 26, N 3/4. P. 1–13.

Sharma S. S., Dietz K. J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance // *Trends Plant Sci.* 2009. V. 14. P. 43–50.

Sharp R. G. A review of the applications of chitin and its derivatives an agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields // *Agronomy*. 2013. N 3. P. 757–793.

Shaw B. R., Prasad M. N. V., Jha V. K., Sahu B. B. Detoxification/defense mechanisms in metal-exposed plants // Trace elements in the environment: biogeochemistry, biotechnology and bioremediation. Chapter 16 / Eds. M. N. V. Prasad, K. S. Sajwan, R. Naidi. Boca Raton; London; New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2006. P. 291–324.

Shen G.-M., Du Q.-Z., Wang J.-X. Involvement of plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  antiporter in  $\text{Cd}^{2+}$  tolerance // Rice Sci. 2012. V. 19, N 2. P. 161–165.

Shen Z. G., Zhao F. J., McGrath S. P. Uptake and transport of zinc in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and non-hyperaccumulator *Thlaspi ochroleucum* // Plant Cell Environ. 1997. V. 20. P. 898–906.

Sheoran I. S., Singal H. R., Singh R. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) // Photosynth. Res. 1990. V. 23. P. 345–351.

Shi G., Cai Q. Cadmium tolerance and accumulation in eight potential energy crops // Biotechnol. Adv. 2009. V. 27. P. 555–561.

Shi Q., Zhu Z., Xu M. et al. Effects of excess manganese on antioxidant system in *Cucumis sativus* L. under two light intensities // Environ. Exp. Bot. 2006. V. 58. P. 197–205.

Shingu Y., Kudo T., Ohsato S. et al. Characterization of genes encoding metal tolerance proteins isolated from *Nicotiana glauca* and *Nicotiana tabacum* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2005. V. 331. P. 675–680.

Siedlecka A. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients // Acta Soc. Bot. Pol. 1995. V. 64, N 3. P. 262–272.

Siedlecka A., Krupa Z. Interaction between cadmium and iron and its effects on photosynthetic capacity of primary leaves of *Phaseolus vulgaris* // Plant Physiol. Biochem. 1996. V. 35. P. 951–957.

Siedlecka A., Krupa Z. Cd/Fe interaction in higher plants – its consequences for the photosynthetic apparatus // Photosynthetica. 1999. V. 36, N 3. P. 321–331.

Silver S. Bacterial resistance to toxic metal ions – a review // Gene. 1996. V. 179. P. 9–19.

Singh H. P., Batish D. R., Kaur G. et al. Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots // Environ. Exp. Bot. 2008. V. 63. P. 158–167.

Singh K. B., Foley R. C., Onate-Sánchez L. Transcription factors in plant defense and stress responses // Curr. Opin. Plant Biol. 2002. V. 5. P. 430–436.

Singh R. P., Tripathi R. D., Sinha S. K. et al. Response of higher plants to lead contaminated environment // Chemosphere. 1997. V. 34. P. 2467–2493.

Skórzyńska-Polit E., Drązkiewicz M., Krupa Z. The activity of the antioxidative system in cadmium-treated *Arabidopsis thaliana* // Boil. Plant. 2003/2004. V. 47, N 1. P. 71–78.

Smeets K., Ruytinx J., Semane B. et al. Cadmium-induced transcriptional and enzymatic alterations related to oxidative stress // Environ. Exp. Bot. 2008. V. 63. P. 1–8.

Smykalová I., Zámečnicková B. The relationship between salinity and cadmium stress in barley // Biol. Plant. 2003. V. 46, N 2. P. 269–273.

Song W. Y., Sohn E. J., Martinoia E. et al. Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants // Nat. Biotechnol. 2003. V. 21. P. 914–919.

Song W. Y., Choi K. S., Kim D. Y. et al. Arabidopsis PCR2 is a zinc exporter involved in both zinc extrusion and long-distance zinc transport // Plant Cell. 2010. V. 22, N 7. P. 2237–2252.

Song Y., Cui J., Zhang H. et al. Proteomic analysis of copper stress responses in the roots of two rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in Cu tolerance // Plant Soil. 2013. V. 366. P. 647–658.

Souza J. F., Rauser W. E. Maize and radish sequester excess cadmium and zinc in different ways // Plant Sci. 2003. V. 165. P. 1009–1022.

Souza J. F., Dolder H., Cortelazzo A. L. Effect of excess cadmium and zinc ions on roots and shoots of maize seedlings // J. Plant Nutr. 2005. V. 28, N 11. P. 1923–1931.

Steffens J. C. The heavy metal-binding peptides of plants // Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. 1990. V. 41. P. 553–575.

Stevens R. G., Creissen G. P., Mullineaux P. M. Cloning and characterization of a cytosolic glutathione reductase cDNA from pea (*Pisum sativum* L.) and its expression in response to stress // Plant Mol. Biol. 1997. V. 35. P. 641–654.

Stolt J. P., Sneller F. E. C., Bryngelsson T. et al. Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat // Environ. Exp. Bot. 2003. V. 49. P. 21–28.

Stroiński A., Giżewska K., Zielezińska M. Asbcisic acid is required in transduction of cadmium signal to potato roots // Biol. Plant. 2013. V. 57, N 1. P. 121–127.

Strasdeit H., Duhme A-K., Kneer R. et al. Evidence for discrete Cd(SCys)<sub>4</sub> units in cadmium phytochelatin complex from EXAFS spectroscopy // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1991. V. 16. P. 1129–1130.

Sunkar R., Kapoor A., Zhu J-K. Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxidase dismutase genes in *Arabidopsis* is mediated by downregulation of miR398 and important for oxidative stress tolerance // Plant Cell. 2006. V. 18. P. 2051–2065.

Suzuki M., Tsukamoto T., Inoue H. et al. Deoxymugineic acid increases Zn translocation in Zn-deficient rice plants // Plant Mol. Biol. 2008. V. 66. P. 609–617.

Suzuki N., Koizumi N., Sano H. Screening of cadmium responsive genes in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Environ. 2001. V. 24. P. 1177–1188.

Sytar O., Kumar A., Latowski D. et al. Heavy metal-induced oxidative damage, defence reactions, and detoxification mechanisms in plants // Acta Physiol. Plant. 2013. V. 35. P. 985–999.

Szalai G., Kellos T., Galiba G., Kocsy G. Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions // J. Plant Growth Regul. 2009. V. 28. P. 66–80.

Szczypka M. S., Wemmie J. A., Moye-Rowley W. S., Thiele D. J. A yeast metal resistance protein similar to human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) and multing resistance-associated protein // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 22853–22857.

Sze H., Ward J. M., Lai S. Vacuolar H<sup>+</sup>-translocating ATPases from plants: structure, function, and isoforms // J. Bioenerg Biomembr. 1992. V. 24. P. 371–381.

Takahashi M., Terada Y., Nakai I. et al. Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development // Plant Cell. 2003. V. 15, N 6. P. 1263–1280.

Talanova V. V., Titov A. F., Boeva N. P. Effect of increasing concentration of lead and cadmium on cucumber seedlings // Biol. Plant. 2000. V. 43, N 3. P. 441–444.

Tamas L., Bočová B., Huttová J. et al. Cadmium-induced inhibition of apoplastic ascorbate oxidase in barley roots // J. Plant Growth Regul. 2006. V. 48. P. 41–49.

Tan J., Wang J., Chai T. et al. Functional analyses of TaHMA2, a P<sub>1B</sub>-type ATPase in wheat // Plant Biotechnol. J. 2013. V. 11. P. 420–431.

Tanaka K., Fujimaki S., Fujiwara T. et al. Quantitative estimation of the contribution of the phloem in cadmium transport to grains in rice plants (*Oryza sativa* L.) // Soil Sci. Plant Nutr. 2007. V. 53. P. 72–77.

Tang W., Charles T. M., Newton R. J. Overexpression of the pepper transcription factor CAPF1 in transgenic Virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.) confers multiple stress tolerance and enhances organ growth // Plant Mol. Biol. 2005. V. 59. P. 603–617.

Tao S., Liu W. X., Chen Y. J. et al. Evaluation of factors influencing root-induced changes of copper fractionation in rhizosphere of a calcareous soil // Environ. Pollut. 2004. V. 129. P. 5–12.

Tatár E., Mihucz V. G., Kmethy B. et al. Determination of organic acids and their role in nickel transport within cucumber plants // Microchem. J. 2000. V. 67. P. 73–81.

Tausz M., Sircelj H., Grill D. The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid? // J. Exp. Bot. 2004. V. 55. P. 1955–1962.

- Thapa G., Sadhukhan A., Panda S. K., Sahoo L. Molecular mechanistic model of plant heavy metal tolerance // *Biometals*. 2012. V. 25. P. 489–505.
- Thévenod F. Cadmium and cellular signaling cascades: To be or not to be? // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009. V. 238. P. 221–239.
- Titov A. F., Talanova V. V., Boeva N. P. Growth responses of barley and wheat seedlings to lead and cadmium // *Biol. Plant.* 1996. V. 38, N 3. P. 431–436.
- Tommasini R., Vogt E., Fromenteau M. et al. An ABC-transporter of *Arabidopsis thaliana* has both glutathione-conjugate and chlorophyll catabolite transport activity // *Plant J.* 1998. V. 13. P. 773–780.
- Tor M., Lotze M. T., Holton N. Receptor-mediated signaling in plants: molecular patterns and programmes // *J. Exp. Bot.* 2009. V. 60. P. 3645–3654.
- Trampczynska A., Küpper H., Meyer-Klaucke W. et al. Nicotianamine forms complexes with Zn (II) in vivo // *Metallomics*. 2010. V. 2, N 1. P. 57–66.
- Tukendorf A. The response of spinach plants to excess of copper and cadmium // *Photosynthetica*. 1993. V. 28. P. 573–575.
- Tukendorf A., Baszynski T. The *in vivo* effect of cadmium on photochemical activities in chloroplasts of runner bean plants // *Acta Physiol. Plant.* 1991. N 13. P. 81–87.
- Ueno D., Yamaji N., Kono I. et al. Gene limiting cadmium accumulation in rice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. P. 16500–16505.
- Ünyayar S., Değer A. G., Çelik A. et al. Cadmium-induced antioxidant status and sister-chromatid exchanges in *Vicia faba* L. // *Turk. J. Biol.* 2010. V. 34, N 4. P. 413–422.
- Uraguchi S., Fujiwara T. Cadmium transport and tolerance in rice: perspectives for reducing grain cadmium accumulation // *Rice*. 2012. V. 5. P. 1–8. DOI: 10.1186/1939-8433-5-5.
- Uraguchi S., Fujiwara T. Rice breaks ground for cadmium-free cereals // *Plant Biol.* 2013. V. 16. P. 328–334.
- Uraguchi S., Watanabe I., Yoshitomi A. et al. Characteristics of cadmium accumulation and tolerance in novel Cd-accumulating crops, *Avena strigosa* and *Crotaria juncea* // *J. Exp. Bot.* 2006. V. 57. P. 2955–2965.
- Uraguchi S., Mori S., Kuramata M. et al. Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice // *J. Exp. Bot.* 2009. V. 60, N 9. P. 2677–2688.
- Uraguchi S., Kamiya T., Sakamoto T. et al. Low-affinity cation transporter (*OsLCT1*) regulates cadmium transport into rice grains // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. P. 20959–20964.
- Usha B., Keeran N. S., Harikrishnan M. et al. Characterization of a type 3 metallothionein isolated from *Porteresia coarctata* // *Biol. Plant.* 2011. V. 55, N 1. P. 119–124.

*Vaahtera L., Brosché M.* More than the sum of its parts – How to achieve a specific transcriptional responses to abiotic stress // *Plant Sci.* 2011. V. 180. P. 421–430.

*Vaculik M., Lux A., Luxová A. et al.* Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants // *Environ. Exp. Bot.* 2009. P. 52–58.

*Vanacker H., Carver T. L. W., Foyer C. H.* Early H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in mesophyll cells leads to induction of glutathione during the hyper-sensitive response in barley-powdery mildew interaction // *Plant Physiol.* 2000. V. 123. P. 1289–1300.

*Van Assche F., Clijsters H.* Effects of metals on enzyme activity in plants // *Plant Cell Environ.* 1990. V. 13, N 1. P. 195–206.

*Van Belleghem F., Cuyppers A., Semane B. et al.* Subcellular localization of cadmium in roots and leaves of *Arabidopsis thaliana* // *New Phytol.* 2007. V. 173. P. 495–508.

*Van Breusegem F., Vranová E., Dat J. F., Inze D.* The role of active oxygen species in plant signal transduction // *Plant Sci.* 2001. V. 161. P. 405–414.

*Van de Mortel J. E., Villanueva L. A., Schat H. et al.* Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish roots of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* // *Plant Physiol.* 2006. V. 142, N 3. P. 1127–1147.

*Van de Mortel J. E., Schat H., Moerland P. D. et al.* Expression differences for genes involved in lignin, glutathione and sulphate metabolism in response to cadmium in *Arabidopsis thaliana* and the related Zn/Cd-hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* // *Plant Cell Environ.* 2008. V. 31. P. 301–324.

*Van der Zaal D. J., Neuteboom L. W., Pinas J. E. et al.* Overexpression of a novel *Arabidopsis* gene related to putative zinc-transporter genes from animals can lead to enhanced zinc resistance and accumulation // *Plant. Physiol.* 1999. V. 119. P. 1047–1056.

*Vassilev A.* Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with barley plants: an overview // *J. Central Eur. Agric.* 2002. V. 4, N 1. P. 65–74.

*Vassilev A., Yordanov I., Chakakova E., Kerin V.* Effect of cadmium stress on growth and photosynthesis of young barley (*H. vulgare* L.) plants. II. Structural and functional changes in the photosynthetic apparatus // *Bulg. J. Plant Physiol.* 1995. V. 21, N 4. P. 12–21.

*Vassilev A., Kerin V., Atanasov P.* Effect of cadmium pollution of soil upon productivity and seedling qualities of two winter barley (*H. vulgare* L.) cultivars // *Bulg. J. Agric. Sci.* 1996. V. 2. P. 333–340.

*Vassilev A., Yordanov I., Tsonev T.* Effect of Cd<sup>2+</sup> on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants // *Photosynthetica.* 1997. V. 34. P. 293–302.



Vassilev A., Berova M., Zlatev Z. Influence of  $\text{Cd}^{2+}$  on growth, chlorophyll content, and water relations in young barley plants // Biol. Plant. 1998a. V. 41, N 4. P. 601–606.

Vassilev A., Tsonev T., Yordanov I. Physiological response of barley plants (*Hordeum vulgare* L.) to cadmium contamination in soil during ontogenesis // Environ. Pollut. 1998b. V. 103. P. 289–297.

Vassilev A., Lidon F., Scotti P. et al. Cadmium-induced changes in chloroplast lipids and photosystem activities in barley plants // Biol. Plant. 2004. V. 48, N 1. P. 153–156.

Vatamaniuk O. K., Mari S., Lu Y. P., Rea P. A. AtPCS1, a phytochelatin synthase from *Arabidopsis*: isolation and *in vitro* reconstitution // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 7110–7115.

Vatamaniuk O. K., Mari S., Lu Y. P., Rea P. A. Mechanism of heavy metal ion activation of phytochelatin (PC) synthase: blocked thiols are sufficient for PC synthase-catalyzed transpeptidation of glutathione and related thiol peptides // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 31451–31459.

Vatamaniuk O. K., Mari S., Lang A. et al. Phytochelatin synthase, a dipeptidyltransferase that undergoes multisite acylation with  $\gamma$ -glutamylcysteine during catalysis: stoichiometric and site-directed mutagenic analysis of *Arabidopsis thaliana* PCS1-catalyzed phytochelatin synthesis // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 22449–22460.

Vázquez J. A., Leonardi P. I. Effects of copper pollution on the ultrastructure of *Lessonia* spp. // Hydrobiologia. 1999. V. 398/399. P. 375–383.

Vázquez S., Goldsbrough P., Carpena R. O. Assessing the relative contributions of phytochelatins and cell wall to cadmium resistance in white lupin // Physiol. Plant. 2006. V. 128. P. 487–495.

Vázquez S., Fernandez-Pascual M., Sanchez-Pardo B. et al. Subcellular compartmentalisation of cadmium in white lupine determined by energy-dispersive X-ray microanalysis // J. Plant. Physiol. 2007. V. 164. P. 1235–1238.

Verbruggen N., Hermans C., Schat H. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants // Curr. Opin. Plant Biol. 2009. V. 12. P. 364–372.

Verkleij J. A. C., Koevoets P. L. M., Blake-Kalff M. M. A., Chardonens A. N. Evidence for an important role in the tonoplast in the mechanism of naturally selected Zn tolerance in *Silene vulgaris* // J. Plant. Physiol. 1998. V. 153. P. 188–191.

Verma S., Dubey R. S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants // Plant Sci. 2003. V. 164, N 4. P. 645–655.

Verret F., Gravot A., Auroy P. et al. Overexpression of AtHMA4 enhanced root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant tolerance // FEBS Lett. 2004. V. 576. P. 306–312.

Vert G., Briat J. F., Curie C. *Arabidopsis* IRT2 gene encodes a root-periphery iron transporter // Plant J. 2001. V. 26. P. 181–189.

Veselov D., Kudoyarova G., Symonyan M., Veselov St. Effect of cadmium on ion uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seedlings // Bulg. J. Plant Physiol. 2003. Special issue. P. 353–359.

Villiers F., Ducruix C., Hugouvieux V. et al. Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches // Proteomics. 2011. V. 11. P. 1650–1663.

Villers F., Jourdain A., Bastien O. et al. Evidence for functional interaction between brassinosteroids and cadmium response in *Arabidopsis thaliana* // J. Exp. Bot. 2012. V. 63, N 3. P. 1185–1200.

Vitória A. P., Rodriguez A. P. M., Cunha M. et al. Structural changes in radish seedlings exposed to cadmium // Biol. Plant. 2003/2004. V. 47, N 4. P. 561–568.

Vogeli-Lange R., Wagner G. J. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves: implication of a transport function for cadmium-binding peptides // Plant Physiol. 1990. V. 92. P. 1086–1093.

Vogel-Mikuš K., Pongrac P., Kump P. et al. Colonization of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungae mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake // Environ. Pollut. 2006. V. 139. P. 362–371.

von Wiren N., Marschner H., Romheld V. Roots of iron-efficient maize also absorb phyto siderophore-chelated zinc // Plant. Physiol. 1996. V. 111. P. 1119–1125.

Vranová E., Inzé D., Van Breusegem F. Signal transduction during oxidative stress // J. Exp. Bot. 2002. V. 53, N 372. P. 1227–1236.

Wagner G. J. Accumulation of cadmium in crop plants and consequences to human health // Adv. Agron. 1993. V. 51. P. 173–212.

Wahid A., Arshad M., Farooq M. Cadmium phytotoxicity: responses, mechanisms and mitigation strategies: a review // Organic farming, pest control and remediation of soil pollutants. Sustainable agriculture reviews / Ed. L. Lichtfouse. Dordrecht: Springer Science + Business Media B.V. 2009. P. 371–403.

Wahid A., Ghani A., Ali I., Ashraf M. Y. Effect of cadmium on carbon and nitrogen assimilation in shoots of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] seedlings // J. Agron. Crop Sci. 2007. V. 193. P. 357–365.

Wang H., Zhao S. C., Liu R. L. et al. Changes of photosynthetic activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to cadmium stress // Photosynthetica. 2009. V. 47, N 2. P. 277–283.

Wang Y., Gao C., Liang Y. et al. A novel bZIP gene from *Tamarix hispida* mediates physiological responses to salt stress in tobacco plants // J. Plant Physiol. 2010. V. 167. P. 222–230.

Wang Y., Qian Y., Hu H. et al. Comparative proteomic analysis of Cd-responsive proteins in wheat roots // *Acta Physiol. Plant.* 2011. V. 33. P. 349–357.

Waters B. M., Grusak M. A. Whole-plant mineral partitioning throughout the life cycle in *Arabidopsis thaliana* ecotypes Columbia, Landsberg *erecta*, Cape Verde Islands, and the mutant line ysl1ysl3 // *New Phytol.* 2008. V. 177. P. 389–405.

Waters B. M., Sankaran R. P. Moving micronutrients from the soil to the seeds: genes and physiological processes from a biofortification perspective // *Plant Sci.* 2011. V. 180. P. 562–574.

Waters B. M., Chu H.-H., DiDonato R. J. et al. Mutations in *Arabidopsis* Yellow Stripe-Like1 and Yellow Stripe-Like3 reveal their roles in metal ion homeostasis and loading of metal ions in seeds // *Plant Physiol.* 2006. V. 141. P. 1446–1458.

Waters B. M., Lucena C., Romera F. J. et al. Ethylene involvement in the regulation of the H<sup>+</sup>-ATPase *CsHAI* gene and of the new isolated ferric reductase *CsFRO1* and iron transporter *CsIRT1* genes in cucumber plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2007. V. 45. P. 293–301.

Wawrzyński A., Kopera E., Wawrzyńska A. et al. Effect of simultaneous expression of heterologous genes involved in phytochelatin biosynthesis on thiol content and cadmium accumulation in tobacco plant // *J. Exp. Bot.* 2006. V. 57. P. 2173–2182.

Weber M., Harada E., Vess C. et al. Comparative microarray analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* roots identifies nicotianamine synthase, a ZIP transporter and other genes as potential metal hyperaccumulation factors // *Plant J.* 2004. V. 37. P. 269–281.

Weber M., Trampczynska A., Clemens S. Comparative transcriptome analysis of toxic metal responses in *Arabidopsis thaliana* and the Cd<sup>2+</sup>-hypertolerant facultative metallophyte *Arabidopsis halleri* // *Plant Cell Environ.* 2006. V. 29. P. 950–963.

Wei L., Luo Ch., Li X., Shen Zh. Copper accumulation and tolerance in *Chrysanthemum coronarium* L. and *Sorghum sudanense* L. // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2008a. V. 55. P. 238–246.

Wei W., Zhang Y., Han L. et al. A novel WRKY transcriptional factor from *Thlaspi caerulescens* negatively regulates the osmotic stress tolerance of transgenic tobacco // *Plant Cell Rep.* 2008b. V. 27. P. 795–803.

Weigel H. J., Jäger H. J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants // *Plant Physiol.* 1980. V. 65. P. 480–482.

Wenzel W. W., Bunkowski M., Puschenreiter M., Horak O. Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil // *Environ. Pollut.* 2003. V. 123. P. 131–138.

White P. J. Studying calcium channels from the plasma membrane of plant root cells in planar lipid bilayers // Advances in planar lipid bilayers and liposomes. V. 1 / Eds. H. T. Tien, A. Ottova-Leitmannova. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 2005. P. 101–120.

Wierzbicka M. Lead accumulation and its translocation in roots of *Allium cepa* L. – autoradiographic and ultrastructural studies // Plant Cell Environ. 1987. V. 10. P. 17–26.

Wierzbicka M. Lead in apoplast of *Allium cepa* L. root tips – ultrastructural studies // Plant Sci. 1998. V. 133. P. 105–119.

Wierzbicka M., Obidzińska J. The effect of lead on seed imbibitions and germination in different plant species // Plant Sci. 1998. V. 137, N 2. P. 155–171.

Williams L., Salt D. E. The plant ionome coming into focus // Curr. Opin. Plant Biol. 2009. V. 12, N 3. P. 247–249.

Willner H., Vasak M., Kagi J. H. Cadmium-thiolate clusters in metallothionein: spectrophotometric and spectropolarimetric features // Biochemistry. 1987. V. 26. P. 6287–6292.

Wilson I. D., Neill S. J., Hancock J. T. Nitric oxide synthesis and signalling in plants // Plant Cell Environ. 2008. V. 31. P. 622–631.

Wintz H., Fox T., Wu Y. Y. et al. Expression profiles of *Arabidopsis thaliana* in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 47644–47653.

Wiseman H., Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer // Biochem. J. 1996. V. 313. P. 17–29.

Wodala B., Eitel G., Gyula T. N. et al. Monitoring moderate Cu and Cd toxicity by chlorophyll fluorescence and P<sub>700</sub> absorbance in pea leaves // Photosynthetica. 2012. V. 50, N 3. P. 380–386.

Wójcik M., Tukiendorf A. Cd-tolerance of maize, rye and wheat seedlings // Acta Physiol. Plant. 1999. V. 21, N 2. P. 99–107.

Wójcik M., Tukiendorf A. Cadmium uptake, localization and detoxification in *Zea mays* // Biol. Plant. 2005. V. 49, N 2. P. 237–245.

Wong C. K. E., Cobbett C. S. HMA P-type ATPases are the major mechanism for root-to-shoot Cd translocation in *Arabidopsis thaliana* // New Phytol. 2008. V. 181. P. 71–78.

Wong H. L., Sakamoto T., Kawasaki T. et al. Down-regulation of metallothionein, a reactive oxygen scavenger, by the small GTPase OsRac1 in rice // Plant Physiol. 2004. V. 135. P. 1447–1456.

Wu F., Zhang G., Dominy P. Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity // Environ. Exp. Bot. 2003. V. 50. P. 67–78.

Wu F.-B., Chen F., Wei K., Zhang G.-P. Effects of cadmium on free amino acid, glutathione and ascorbic acid concentrations in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) differing in cadmium tolerance // *Chemosphere*. 2004. V. 57. P. 447–454.

Xiang C., Oliver D. J. Glutathione metabolic genes coordinately respond to heavy metals and jasmonic acid in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 1998. V. 10. P. 1539–1550.

Xiang C., Werner B. L., Christensen E. M., Oliver D. J. The biological functions of glutathione revisited in *Arabidopsis* transgenic plants with altered glutathione levels // *Plant Physiol*. 2001. V. 126. P. 564–574.

Xing H., Tan L., An L. *et al.* Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings: inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss // *J. Plant Growth Regul.* 2004. V. 42. P. 61–68.

Xiong J., He Z., Liu D. *et al.* Role of bacteria in the heavy metals removal and growth of *Sedum alfredii* Hance in an aqueous medium // *Chemosphere*. 2008. V. 70. P. 489–494.

Xiong J., An L. Y., Lu H., Zhu C. Exogenous nitric oxide enhances cadmium tolerance of rice by increasing pectin and hemicellulose contents in root cell wall // *Planta*. 2009. V. 230. P. 755–765.

Xiong J., Fu G., Tao L., Zhu C. Roles of nitric oxide in alleviating heavy metal toxicity in plants // *Arch. Biochem. Biophys.* 2010. V. 497. P. 13–20.

Xu X. Y., McGrath S. P., Zhao F. J. Rapid reduction of arsenate in the medium mediated by plant roots // *New Phytol.* 2007. V. 176. P. 590–599.

Xue T. T., Li X. Z., Zhu W. *et al.* Cotton metallothionein *GhMT3a*, a reactive oxygen species scavenger, increased tolerance against abiotic stress in transgenic tobacco and yeast // *J. Exp. Bot.* 2009. V. 60. P. 339–349.

Xue Z.-C., Gao H.-Y., Zhang L.-T. Effects of cadmium on growth, photosynthetic rate, and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings // *Biol. Plant*. 2013. V. 57, N 3. P. 587–590.

Yamaji N., Xia J., Mitani-Ueno N. *et al.* Preferential delivery of zinc to developing tissues in rice is mediated by P-type heavy metal ATPase OsHMA2 // *Plant Physiol*. 2013. V. 162. P. 927–939.

Yamauchi M., Peng X. X. Iron toxicity and stress-induced ethylene production in rice leaves // *Plant Soil*. 1995. V. 173. P. 21–28.

Yang J., Wang Y., Liu G. *et al.* *Tamarix hispida* metallothionein-like *ThMT3*, a reactive oxygen species scavenger, increases tolerance against  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$  and NaCl in transgenic yeast // *Mol. Biol. Rep.* 2011. V. 38, N 3. P. 1567–1574.

Yang X., Chu C. Towards understanding plant response to heavy metal stress // *Abiotic stress in plants – mechanisms and adaptations* / Eds. A. K. Shanker, B. Venkateswarlu. 2011. Intech Janeza Trdine 9. P. 59–78.

Yang X. E., Baligar V. C., Foster J. C., Martens D. C. Accumulation and transport of nickel in relation to organic acid in ryegrass and maize grown with different nickel levels // Plant. Soil. 1997. V. 196. P. 271–276.

Yang X., Feng Y., He Z. L., Stoffella P. J. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation // J. Trace Elem. Med. Biol. 2005. V. 18. P. 339–353.

Yang X., Huang J., Jiang Y., Zhang H. S. Cloning and functional identification of two members of the ZIP (Zrt, Irt-like protein) gene family in rice (*Oryza sativa* L.) // Mol. Biol. Rep. 2009a. V. 36. P. 281–286.

Yang Z., Wu Y. R., Li Y. et al. OsMT1a, a type 1 metallothionein, plays the pivotal role in zinc homeostasis and drought tolerance in rice // Plant Mol. Biol. 2009b. V. 70. P. 219–229.

Yannarelli G. G., Fernàndes-Alvarez A. J., Santa-Cruz D. M., Tomaro M. L. Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress // Phytochemistry. 2007. V. 68. P. 505–512.

Ye Z. H., Baker A. J. M., Wong M. H., Willis A. J. Zinc, lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by *Typha latifolia* // New Phytol. 1997. V. 136. P. 469–480.

Yeh C-M., Hsiao L-J., Huang H-J. Cadmium activates a mitogen-activated protein kinase gene and MBP kinases in rice // Plant Cell Physiol. 2004. V. 45. P. 1306–1312.

Yeh C-M., Chen P-S., Huang H-J. Distinct signalling pathways for indication of MAP kinase activities by cadmium and copper in rice roots // J. Exp. Bot. 2007. V. 58, N 3. P. 659–671.

Yen M.-R., Tseng Y.-H., Saier M. H. Maize Yellow Stripe 1, and iron-phytosiderophore uptake transporter, is a member of the oligopeptide transporter (ORT) family // Microbiology. 2001. V. 147. P. 2881–2883.

Yoshimura K., Miyao K., Gaber A. et al. Enhancement of stress tolerance in transgenic tobacco plant overexpressing *Chlamydomonas* glutathione peroxidase in chloroplasts or cytosol // Plant J. 2004. V. 37. P. 21–33.

Yuan L., Yang S., Liu B. et al. Molecular characterization of a rice metal tolerance protein, OsMTP1 // Plant Cell Rep. 2012. V. 31. P. 67–76.

Yuan M., Li X., Xiao J., Wang S. Molecular and functional analyses of COPT/Crt-type copper transporter-like gene family in rice // BMC Plant Biol. 2011. 11: 69; DOI: 10.1186/1471-2229-11-69.

Zaidi S., Musarrat J. Characterization and assessment of nickel sorption capacity of a new metal-tolerant *Bacillus* sp. // J. Environ. Sci. Health. 2004. V. A39, N 3. P. 681–691.

Zawoznik M. S., Groppa M. D., Tomaro M. L., Benavides M. P. Endogenous salicylic acid potentiates cadmium-induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* // Plant Sci. 2007. V. 173. P. 190–197.

Zenk M. H. Heavy metal detoxification in higher plants – a review // Gene. 1996. V. 179, N 1. P. 21–30.

Zhang L., Chen Z., Zhu C. Endogenous nitric oxide mediates alleviation of cadmium toxicity induced by calcium in rice seedlings // J. Environ. Sci. 2012. V. 24. P. 940–948.

Zhang W-H, Ryan P. R., Tyerman S. D. Malate-permeable channels and cation channels activated by cadmium in the apical cells of wheat roots // Plant Physiol. 2001. V. 125. P. 1459–1472.

Zhang X., Zhang S., Xua X. et al. Tolerance and accumulation characteristics of cadmium in *Amaranthus hybridus* L. // J. Hazard. Mater. 2010. V. 180. P. 303–308.

Zhao F. Y., Hu F., Zhang S. Y. et al. MARKs regulate root growth by influencing auxin signaling and cell cycle-related gene expression in cadmium-stressed rice // Environ. Sci. Pollut. Res. 2013. V. 20. P. 5449–5460.

Zhigang A., Cuijie I., Yuangang Z. et al. Expression of BjMT2, a metallothionein 2 from *Brassica juncea*, increases cooper and cadmium tolerance in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana*, but inhibits root elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings // J. Exp. Bot. 2006. V. 14. P. 3575–3582.

Zhou J. M., Goldsbrough P. B. Functional homologs of fungal metallothionein genes from *Arabidopsis* // Plant Cell. 1994. V. 6. P. 875–884.

Zhou Z. S., Guo K., Elbaz A. A., Yang Z. M. Salicylic acid alleviates mercury toxicity by preventing oxidative stress in roots of *Medicago sativa* // Environ. Exp. Bot. 2009. V. 65. P. 27–34.

Zhu J., Zhang Q., Wu R., Zhang Z. HbMT2 an ethephon-induced metallothionein gene from *Hevea brasiliensis* responds to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stress // Plant Physiol. Biochem. 2010. V. 48. P. 710–715.

Zhu Y. L., Pilon-Smits E. A. H., Jouanin L., Terry N. Overexpression of glutathione synthetase in Indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance // Plant Physiol. 1999. V. 119, N 1. P. 73–79.

Zou M., Guan Y., Ren H. et al. A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance // Plant Mol. Biol. 2008. V. 66. P. 675–683.

## ОСНОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

АБК – абсцизовая кислота  
АК – аскорбиновая кислота  
АОС – антиоксидантная система  
АПО (АРХ) – аскорбатпероксидаза  
АФК – активные формы кислорода  
БС – брассиностероиды  
БТШ (HSP) – белки теплового шока  
ГвПО – гваяколпероксидаза  
ГР (GR) – глутатионредуктаза  
ГПО – глутатионпероксидаза  
GST – глутатион-S-трансфераза  
ДАК – дегидроаскорбиновая кислота  
ДГАР – дегидроаскорбатредуктаза  
ЖК – жасмоновая кислота  
ИУК – индолил-3-уксусная кислота  
КАТ (CAT) – каталаза  
МАР-киназа (МАРК) – митоген-активированная протеинкиназа  
МДА – малоновый диальдегид  
МТ – металлотионеины  
ПДК – предельно допустимая концентрация  
ПОЛ – перекисное окисление липидов  
СК – салициловая кислота  
СОД (SOD) – супероксиддисмутаза  
ТМ – тяжелые металлы  
ТФ – транскрипционный фактор  
ФС I, II – фотосистема I, II  
ФСА – фотосинтетический аппарат  
ФХ (PC) – фитохелатины  
ФХС (PCS) – фитохелатинсинтаза  
ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота



CaM – кальмодулин

GS – глутатионсинтетаза

GSH – восстановленная форма глутатиона

GSSG – окисленная форма глутатиона

$\gamma$ -GCS, ( $\gamma$ -ECS) –  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтетаза

$\gamma$ -GC –  $\gamma$ -глутамилцистеин

HMW – высокомолекулярный комплекс

LMW – низкомолекулярный комплекс

NA – никотинамин

NAS – никотинаминсинтаза

NO – оксид азота

## СПИСОК ВИДОВ РАСТЕНИЙ

Латинское название вида	Русское название вида	Семейство
<i>Allium sativum</i> L.	Лук посевной	Лилейные
<i>Alyssum bertolonii</i> Desv.	Бурачок Бертолонии	Крестоцветные
<i>Alyssum montanum</i> Brot.	Бурачок горный	Крестоцветные
<i>Alyssum murale</i> Waldst. et Kit.	Бурачок стенной	Крестоцветные
<i>Arabidopsis halleri</i> (L.) O'Kane, Al-Shehbaz	Резуховидка Галлера	Крестоцветные
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	Резуховидка Таля	Крестоцветные
<i>Arachis hypogaea</i> L.	Арахис подземный	Бобовые
<i>Avena sativa</i> L.	Овес посевной	Злаки
<i>Avena strigosa</i> Schreb.	Овес щетинистый	Злаки
<i>Avicennia marina</i> (Forssk.) Vierh.	Авиценния морская	Вербеновые
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.	Бакопа Монье (мелколистная)	Подорожниковые
<i>Brassica napus</i> L.	Капуста масличная (рапс)	Крестоцветные
<i>Brassica rapa</i> L.	Репа огородная	Крестоцветные
<i>Cajanus cajan</i> (L.) Mill.	Голубиный горох	Бобовые
<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	Хризантема увенчанная	Астровые
<i>Cucumis sativus</i> L.	Огурец посевной	Тыквенные
<i>Echinochloa crusgalli</i> (L.) Beauv.	Ежовник обыкновенный	Злаки
<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski.	Пырей ползучий	Злаки
<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.	Гречиха посевная	Гречишные
<i>Festuca arundinacea</i> L.	Овсяница тростниковая	Злаки
<i>Festuca rubra</i> L.	Овсяница красная	Злаки
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Соя культурная	Бобовые
<i>Gossypium hirsutum</i> Parl.	Хлопчатник обыкновенный	Мальвовые
<i>Gossypium herbaceum</i> L.	Хлопчатник травянистый	Мальвовые
<i>Helianthus annuus</i> L.	Подсолнечник однолетний	Астровые
<i>Hevea brasiliensis</i> (Willd. ex A. Juss) Müll. Arg.	Гевея бразильская	Молочайные
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Ячмень обыкновенный	Злаки
<i>Lactuca sativa</i> L.	Латук посевной	Астровые
<i>Lepidium sativum</i> L.	Клоповник посевной	Крестоцветные
<i>Limonium bicolor</i> Kuntze.	Желтушник двуцветный	Кермековые
<i>Lolium perenne</i> L.	Плевел многолетний	Злаковые

<i>Lupinus albus</i> L.	Люпин белый	Бобовые
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Томат обыкновенный	Пасленовые
<i>Medicago sativa</i> L.	Люцерна посевная	Бобовые
<i>Medicago truncatula</i> Gaertn.	Люцерна слабоусеченная	Бобовые
<i>Mesembryanthemum crystallinum</i> L.	Мезембриантемум хрустальный	Аизовые
<i>Nicotiana rustica</i> L.	Табак махорка	Пасленовые
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Табак обыкновенный	Пасленовые
<i>Oryza sativa</i> L.	Рис посевной	Злаки
<i>Paraserianthes falcataria</i> (L.) I. C. Nielsen	–	Бобовые
<i>Pelargonium graveolens</i> (L.) L'Hér. ex Ait.	Пеларгония ароматная	Гераниевые
<i>Pinus virginiana</i> Mill.	Сосна виргинская	Сосновые
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Фасоль обыкновенная	Бобовые
<i>Phleum pratense</i> L.	Тимофеевка луговая	Злаки
<i>Phragmite australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	Тростник обыкновенный	Злаки
<i>Pisum sativum</i> L.	Горох посевной	Бобовые
<i>Plantago major</i> L.	Подорожник большой	Подорожниковые
<i>Populus nigra</i> L.	Тополь черный	Ивовые
<i>Populus tremula</i> L.	Тополь дрожащий	Ивовые
<i>Porteresia coarctata</i> (Roxb.) Tateoka	Дикий рис	Злаки
<i>Raphanus sativus</i> L.	Редька посевная	Крестоцветные
<i>Rauvolfia serpentina</i> (L.) Benth.ex Kurz.	Раувольфия змеиная	Кутровые
<i>Rubia tinctorum</i> L.	Марена красильная	Мареновые
<i>Secale cereale</i> L.	Рожь посевная	Злаковые
<i>Sedum alfredii</i> Hance	Очиток Алфреды	Толстянковые
<i>Setaria viridis</i> (L.) Beauv.	Щетинник зеленый	Злаки
<i>Silene cucubalus</i> (Moench) Garcke или <i>S. vulgaris</i> Wibel.	Хлопушка обыкновенная	Гвоздичные
<i>Solanum nigrum</i> L.	Паслен черный	Пасленовые
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Картофель (паслен клубеносный)	Пасленовые
<i>Sorghum sudanense</i> Jakushev.	Сорго травянистое	Злаки
<i>Tamarix hispida</i> Willd.	Гребенщик стройный	Тамарисковые
<i>Thlaspi arvense</i> L.	Ярутка полевая	Крестоцветные
<i>Thlaspi caerulescens</i> L.	Ярутка альпийская	Крестоцветные
<i>Thlaspi praecox</i> Wulfen.	Ярутка ранняя	Крестоцветные
<i>Triticum aestivum</i> L.	Пшеница мягкая	Злаки
<i>Trifolium repens</i> L.	Клевер ползучий	Бобовые
<i>Typha latifolia</i> L.	Рогоз широколистный	Рогозовые
<i>Vicia faba</i> L.	Боб садовый	Бобовые
<i>Vigna radiate</i> (L.) R.Wilczek	Бобы мунг (маш)	Бобовые
<i>Zea mays</i> L.	Кукуруза сахарная	Злаки

## О Г Л А В Л Е Н И Е

<b>Введение</b> .....	3
<b>Глава 1. Поступление тяжелых металлов в растения и их распределение по тканям и органам</b> .....	7
1.1. Краткая характеристика химических элементов, относящихся к группе тяжелых металлов .....	7
1.2. Поглощение тяжелых металлов корнями растений .....	11
1.3. Транспорт тяжелых металлов по растению .....	16
<b>Глава 2. Влияние тяжелых металлов на основные физиологические процессы растений</b> .....	23
2.1. Рост .....	23
2.2. Развитие .....	31
2.3. Фотосинтез .....	32
2.4. Дыхание .....	36
2.5. Водный обмен .....	38
<b>Глава 3. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам</b> .....	41
3.1. Роль ризосферы и арбускулярной микоризы в устойчивости растений к тяжелым металлам .....	42
3.2. Роль клеточной стенки в ограничении поступления тяжелых металлов в клетку и устойчивости к ним растений .....	49
3.3. Участие плазмалеммы в устойчивости растений к тяжелым металлам .....	53
3.4. Детоксикация тяжелых металлов в клетке .....	58
3.4.1. Связывание ионов тяжелых металлов в цитоплазме .....	59
3.4.2. Изоляция ионов тяжелых металлов в вакуоли .....	84
3.5. Участие антиоксидантной системы в устойчивости растений к тяжелым металлам .....	95
<b>Глава 4. Восприятие и передача в клетках растений сигнала о воздействии тяжелых металлов</b> .....	111
4.1. Восприятие сигнала о действии тяжелых металлов .....	111
4.2. Участие вторичных мессенджеров в передаче сигнала .....	112
4.3. Активация MAP-киназного каскада .....	121
4.4. Активация транскрипционных факторов .....	123
<b>Заключение</b> .....	130
<b>Литература</b> .....	134
<b>Основные сокращения</b> .....	190
<b>Список видов растений</b> .....	192



Научное издание

Александр Федорович Титов  
Наталья Мстиславовна Казнина  
Вера Викторовна Таланова

## **ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ И РАСТЕНИЯ**

*Печатается по решению Ученого совета Института биологии  
Карельского научного центра РАН*

Фото на обложке Н. М. Казниной

Редактор *Л. В. Кабанова*  
Оригинал-макет *Т. Н. Люрина*

Сдано в печать 18.11.2014. Формат 60х84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>  
Гарнитура Times New Roman.  
Уч.-изд. л. 9,6. Усл. печ. л. 11,3. Тираж 300 экз. Заказ 244

Карельский научный центр РАН  
Редакционно-издательский отдел  
185003, г. Петрозаводск, пр. А. Невского, 50